

ことは従来から知られていたが、今回我々は、コレステロールを排泄する ABCG5 と ABCG8 も誘導され、胆汁酸を類洞側で取り込む NTCP の発現は抑制されることを見出した。また PPARs の活性化は PXR 自体の発現を亢進し、その活性化されやすくなった PXR にベザフィブラートが結合すると、薬物や毒性化合物を毛細胆管に排泄する MDR1 とビリルビンなどの有機アニオンを排泄する MRP2 の発現を亢進させることも明らかになった。

2) 胆汁酸合成の抑制：ベザフィブラートは PPARs の活性化を介して、胆汁酸合成 2 経路 classic pathway および alternative pathway それぞれの key enzyme である CYP7A1 と CYP27A1 の発現を抑制した。また、PXR を介しても CYP7A1 の発現を抑制していると考えられた。結果として内因性胆汁酸の合成は抑制され、肝細胞内胆汁酸量が減って胆汁うっ滞が軽減される。さらに UDCA との併用時には、内因性胆汁酸の合成抑制は胆汁酸プールの UDCA 比率を上昇させ、UDCA の効果発現を促進している可能性が示唆された。

3) CYP3A4 誘導の意義：ベザフィブラートは PXR の活性化を介して、CYP3A4 の発現を亢進させた。CYP3A4 は、肝組織中において LCA など疎水性で細胞傷害性のある二次胆汁酸を水酸化して、親水性胆汁酸へ変換していると考えられている。またその他の細胞傷害性化合物にも CYP3A4 によって代謝され、無毒化されるものが多く存在することが知られている。

E. 結 論

ベザフィブラートは PPARs と PXR のデュアルリガンドであり、肝トランスポーターの制御、内因性胆汁酸の合成抑制による UDCA 比率の増加、CYP3A4 の活性化による二次胆汁酸を含む細胞傷害性化合物の代謝、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ものと考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Honda A, Ikegami T, Nakamuta M, Miyazaki T, Iwamoto J, Hirayama T, Saito Y, Takikawa H, Imawari M, Matsuzaki Y. Anticholestatic effects of bezafibrate in patients with primary biliary cirrhosis treated with ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 2012 [Epub ahead of print].

2. 学会発表

本多 彰, 宮崎照雄, 池上 正, 松崎靖司, 中牟田誠. PBC における UDCA とベザフィブラートの治療効果発現機序について. 第 1 回胆汁酸フォーラム 2012 年 7 月, 東京.

Honda A, Ikegami T, Miyazaki T, Nakamuta M,

Takikawa H, Matsuzaki Y. Combination therapy of primary biliary cirrhosis with ursodeoxycholic acid and a dual PPAR α /PXR agonist, bezafibrate. 第 22 回 International Bile Acid Meeting (Falk Symposium). 2012 年 9 月, Vienna, Austria.

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

当科における原発性硬化性胆管炎（PSC）に対する肝移植の現状

研究分担者 国土 典宏 東京大学大学院医学系研究科臓器病態外科学 教授

研究要旨：原発性硬化性胆管炎（PSC）の進行例は予後不良であり、肝移植が未だ唯一の根治的治療であると広く認識されているが、本邦の生体肝移植（LDLT）例は他疾患と比較して予後不良であると報告されている。東京大学ではPSCに対する成人生体肝移植自験例を検討し、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本邦で初めて指摘した。当科でLDLTを施行した14例では、移植後PSC再発を高頻度（43%）に認めたものの、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が示唆された。

共同研究者

菅原 寧彦 東京大学医学部 人工臓器移植外科
田村 純人 東京大学医学部 人工臓器移植外科
山敷 宣代 東京大学医学部 臓器移植医療部
田中 智大 東京大学医学部 臓器移植医療部

A. 研究目的

原発性硬化性胆管炎（PSC）は、胆管周囲の慢性炎症および線維化により肝内・肝外に狭窄を来す進行性胆汁うっ滞性疾患である。進行例では予後不良なため、根治的治療として肝移植が選択肢の一つとなるが、移植術後のPSC再発によりグラフト不全を来しうる。また、日本の生体肝移植（LDLT）例114例のうち26例（27%）で再発を認め、その69%はグラフトロスに至ったと報告されている（Egawaら、2011）。そこで、当院におけるPSCに対する肝移植の現状を検討した。

B. 研究方法

- (1) 1996年から2011年末までの間、PSCに対して肝移植を施行され当科でフォローされた全症例を解析の対象とした。
- (2) 当該症例のうち、当科でLDLTを施行した群の患者背景を検討し、その累積生存率・累積再発率について Kaplan-Meier法を用いて解析した。また、移植後にPSCの再発を認めた症例について詳細を検討した。
- (3) 当院が脳死肝移植実施施設に認定された2001年以降2011年末までの間に、当院にて肝移植適応を評価されたPSC症例の現状と経過を解析した。

C. 研究結果

- (1) 1996年から2011年末までに当院にて403例のLDLTが施行された。そのうちPSCに対してLDLTを施行された症例は14例であった。また、他院でLDLTを施行された症例、当科で脳死肝移植（DDLT）を施行された症例、海外渡航しDDLTを施行された症例が各々1例ずつ当科にてフォローされていた。

- (2) 当科にてPSCに対してLDLTを施行された14例に関して、年齢の中央値は42（19-61）歳、性別は男性7例（50%）、初発症状から移植までの年数は12（2-19）年、移植時MELDスコアは20（12-30）・Mayo PSC risk scoreは3.2（1.8-3.9）であった。14例中5例（36%）に潰瘍性大腸炎の合併を認め、3例（21%）に食道静脈瘤の既往があった。

当該14例の移植後観察期間の中央値は8.1（0.3-13.9）年で、累積生存率は5年94%、10年68%であり、現在の時点では非PSC症例の生存率と差を認めていない。

肝移植後のPSC再発はGraziadeiらの基準（Hepatology 1999）に基づいて診断され、14例中6例に再発を認めた。6例のうち5例が一親等の親族（母3例・父2例）からの臓器提供を受けていた。PSCの移植後無再発生存率は5年72%、10年50%であった。再発までの期間の中央値は4.4（1.1-6.1）年だった。再発した6例のうち、期間中に4例が生存（内2例が脳死肝移植待機中）、2例が死亡（1例は海外渡航し再移植後に死亡、1例は脳死肝移植待機中に死亡）していた。

尚、当科で脳死肝移植を施行された1例にもPSCの再発を認めたが、現在も生存中である。

- (3) PSCに対する生体肝移植の survival benefit を検討するため、2001年から2011年末までに医学的適応の評価を行った52症例について検討した。そのうち23例が時期尚早と判断された。医学的に移植を検討し得た残り29例のうち、13例が肝移植を施行され（当科でLDLT：10例、渡航または他院で肝移植：3例）、10例が脳死肝移植リストに登録され、6例が移植適応外と判断された。脳死肝移植リストに登録された10例の転機は、1例が脳死肝移植施行し生存、1例が登録後に胆道癌と診断され移植適応外の判断、3例が肝不全死、5例が観察終了時待機中であった。評価時点で移植適応外と判断された6例の理由の内訳は、胆道癌により適応外（2例）・患者からの移植断念（4例）であった。5年生存率は、脳死登録された10例で約50%、適応外と判断された6例で約30%であり、前述のLDLT施行例の生存

率と比較すると不良であった。

D. 考 察

PSC の臨床症状は、経過中の閉塞性黄疸や胆道感染症により消長があり、また胆道癌合併の診断も確定診断に難渋することが多く、肝移植の適応症例および時期の判断は容易ではない。

我々は、自験例を検討し、世界で初めてPSCが生体肝移植後高率に再発しうることを指摘した。PSCでは内科治療が奏功し安定した経過をたどる症例も有ることから、「移植適応時期」としての判断には慎重になるべきであると考え、積極的な生体肝移植の適応には躊躇する時期を経たが、移植し得なかった症例の予後を併せて対象とした今回の検討からは、生体肝移植の survival benefit が示された。

E. 結 論

PSC に対する生体肝移植の成績は良好であり、確立された治療法である。内科的治療が無効な胆道感染症および末期肝不全の症例については救命のための肝移植が現在のところ妥当な治療である。引き続き我が国のデータを蓄積し、本邦におけるPSCの特徴や生体肝移植のタイミングや成績について包括的な評価を続ける必要がある。生体肝移植でのドナーの負担は決して小さいものではなく、また脳死登録症例の生存率が低いことから、本邦に於ける脳死肝移植のさらなる発展が待たれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1 : Tamura S, Sugawara Y, Kokudo N. Small-for-size syndrome and transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Liver Transpl* 2012 Nov 21.
- 2 : Yamashiki N, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Takazawa Y, Aoki T, Hasegawa K, Sakamoto Y, Koike K, Kokudo N. Living-donor liver transplantation for autoimmune hepatitis and autoimmune hepatitis-primary biliary cirrhosis overlap syndrome. *Hepatol Res* 2012 Oct; 42(10): 1016-23.
- 3 : Shindoh J, Aoki T, Hasegawa K, Beck Y, Sugawara Y, Makuuchi M, Kokudo N. Donor hepatectomy using hanging maneuvers: Tokyo University experiences in 300 donors. *Hepatogastroenterology* 2012 Sep; 59(118): 1939-43.
- 4 : Yamashiki N, Sugawara Y, Tamura S, Nakayama N, Oketani M, Umeshita K, Uemoto S, Mochida S, Tsubouchi H, Kokudo N. Outcomes after living donor liver transplantation for acute liver failure in Japan: results of a nationwide

survey. *Liver Transpl* 2012 Sep; 18(9): 1069-77.

- 5 : Ohkubo T, Sugawara Y, Takayama T, Kokudo N, Makuuchi M. The risk factors of fungal infection in living-donor liver transplantations. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012 Jul; 19(4): 382-8.
- 6 : Kazama S, Hongo K, Sunami E, Sugawara Y, Kokudo N, Kitayama J. Six cases of primary colorectal cancer after living-donor liver transplantation: a single-institution experience in Japan. *Jpn J Clin Oncol* 2012 Jul; 42(7): 586-90.
- 7 : Sugawara Y, Tamura S, Yamashiki N, Kaneko J, Aoki T, Sakamoto Y, Hasegawa K, Kokudo N. Preemptive antiviral treatment for hepatitis C virus after living donor liver transplantation. *Transplant Proc* 2012 Apr; 44(3): 791-3.
- 8 : Shindoh J, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Yamashiki N, Aoki T, Hasegawa K, Sakamoto Y, Kokudo N. Living donor liver transplantation for patients immunized against human leukocyte antigen. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012 Mar 10.
- 9 : Shindoh J, Sugawara Y, Akamatsu N, Kaneko J, Tamura S, Yamashiki N, Aoki T, Sakamoto Y, Hasegawa K, Kokudo N. Thrombotic microangiopathy after living-donor liver transplantation. *Am J Transplant* 2012 Mar; 12(3): 728-36.
- 10 : Yamashiki N, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Nojiri K, Aoki T, Sakamoto Y, Hasegawa K, Koike K, Kokudo N. Model for end-stage liver disease and model for end-stage liver disease-Na scores predict both before-listing and wait-list mortality. *Transplant Proc* 2012 Mar; 44(2): 389-92.
- 11 : Waki K, Sugawara Y, Mizuta K, Taniguchi M, Ozawa M, Hirata M, Nozawa M, Kaneko J, Takahashi K, Kadowaki T, Terasaki PI, Kokudo N. Predicting Operational Tolerance in Pediatric Living-Donor Liver Transplantation by Absence of HLA Antibodies. *Transplantation* 2012 Dec 10.

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

肝移植後原発性胆汁性肝硬変の再発機序解明

研究協力者 前原 喜彦 九州大学 消化器・総合外科 教授

研究要旨：移植後 PBC の再発の実態を検討し、長期成績における臨床・病理学的予後因子を明らかにすることを目的とした。九州大学において生体肝移植を受けた55例の5年グラフト生存率は82.5%、10年は66.9%であった。長期生存率に及ぼす有意な予後不良因子は HLA ミスマッチ4以上、男性ドナーで、1年以降のグラフト・ロス症例の生検組織像は急性拒絶、慢性拒絶、PBC 再発、静脈閉塞性疾患、閉塞性門脈症等の多彩な病理像を呈し、病理像が変化しながら最終的にグラフトロスに至った。移植後 PBC の病理学的再発像は拒絶の一表現型である可能性がある。

共同研究者

調 憲 九州大学 消化器・総合外科 准教授

A. 研究目的

移植後 PBC の再発の実態を検討し、長期成績における臨床・病理学的予後因子を明らかにするとともに、PBC 再発のグラフト・ロスに及ぼす影響を検討する。

B. 研究方法

九州大学消化器・総合外科において生体肝移植を受けた55例の長期予後を明らかにする目的で、グラフト生存率を検討し、移植後1年以降のグラフト・ロスの5例の生検の病理学的な経時的な変化を検討した。

C. 研究結果

生体肝移植55例の5年グラフト生存率は82.5%、10年は66.9%であった。長期生存率に及ぼす有意な予後不良因子は HLA ミスマッチ 4 以上、男性ドナーで、1年以降のグラフト・ロス症例の生検組織像は急性・慢性拒絶、PBC 再発、静脈閉塞性疾患、閉塞性門脈症等の多彩な病理像を呈し、病理像が変化しながらグラフトロスに至った。移植後 PBC の病理学的再発像は拒絶の一表現型である可能性がある。

D. 考 察

1年以降のグラフト・ロス5例のうち、生検にともなう血腫を契機に死亡した1例を除いた4例はいずれも摘出肝の最終病理像の検討では生検像にてPBCの再発を認めた症例においてもPBCの再発像は明らかではなかった。グラフト・ロスの危険因子として免疫学的な因子が推測される一方、静脈閉塞性疾患、門脈閉塞疾患、PBC再発などの多彩な病理像の混在、経時的な変化は拒絶の表現型としてのPBC再発像の可能性を示唆するものであった。

E. 結 論

肝移植後のPBC再発はグラフト・ロスの直接の原因ではなかったものの、拒絶の表現型の可能性がある。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

別紙参照

2. 学会発表

(発表誌名巻号・発行年も記入)

第29回日本肝移植研究会 抄録2011

シンポジウム2. Primary Biliary Cirrhosis, Primary Sclerosing Cholangitis に対する生体肝移植の成績 -特に移植後原疾患の再発に注目して-

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

研究要旨：PBCは、肝内胆管の進行性破壊と消失が特徴的な原因不明の疾患である。しかしその病因の詳細は不明であり、一定の見解を得るに至っていない。近年様々な遺伝子の発現を調整するマイクロRNA (miRNA) について肝疾患でも報告されているが、PBCでの意義は不明である。そのため、より感度が高く定量性にもすぐれている次世代シーケンサーを用いて、PBCに特徴的に発現される血清内の遊離miRNAについてその特徴的な発現プロファイルを検討した。今回の少数例での探索的検討では、血清内の遊離miRNAを次世代シーケンサーで大量解析することで、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が判明した。この解析法が、PBCの病態解析にも有用である可能性が示唆され、今後さらに様々な病型についても解析を進める。

A. 研究目的

原因不明の疾患で、その病因は未だ不明である。近年次世代シーケンサーを用いた遺伝子発現の超大量解析が進んでおり、肝疾患領域でも次世代シーケンサーを用いた解析、とりわけマイクロRNAの報告が散見されている。マイクロRNA (以下miRNA) は短鎖RNAであり、標的となる分子の発現を調整する多彩な役割を有している。肝疾患では慢性B型肝炎、慢性C型肝炎でそれぞれ発現が特徴的なmiRNAの報告がなされている。今回、PBCの患者の血清より得られた検体を用いて、血清内の遊離miRNAを網羅的に検討した。本年度は、特に技術的な検討を行うために、PBCと他の肝疾患と比較することによりmiRNAプロファイリングによる階層的クラスター分類が技術的に可能かということについて、少数例での探索的検討を行った。

B. 研究方法

PBC患者の血清内遊離miRNAのプロファイリングを検討。血清よりTrizol LSを用いてTotal RNAを抽出、TruSeq small RNA sample prep kitを用いて、ライブラリーを作成し、シーケンシングを行った。疾患コントロールとして同数の慢性B型肝炎、同数の慢性C型肝炎、そして健常者からの検体を用いて検討した。ミスマッチの許容は1%で行い、ANOVAによる有意差検討で統計学的さを認めたものについてはさらに定量的PCR法にて発現の多少を検討した。

C. 研究結果

① PBC患者血清5検体の血清内遊離miRNAのプロファイリングを行い、B型肝炎、C型肝炎、健常者と多群比較しクラスターリングANOVA (分散分析) で $P < 0.05$ を抽出した。P-valueが計算できたものは670個あり、解析の結果得られたものは、110個のmiRNA。110個のmiRNAについて発現パターンによるクラスターリングを行い、ヒートマップを作成したところ、PBCは一つの群を形成した。さらに定

量的PCR法で発現を定量したところ、次世代シーケンサーで特徴的に低値であったmiRNAはこの方法でも低値であることが確認された。

D. 考察

①血清内遊離miRNAを解析することにより、疾患の新たな特徴を見い出せる可能性があり、発症原因の解明に迫ることができる。今後、さらに症例数を増やしてPBCに特徴的なmiRNAや新規miRNAの同定を行う予定である。

E. 結論

次世代シーケンサーによるmiRNA解析は、PBCの発症に関係するmiRNAの探索に有用であり、PBCの病因を解明する一つのツールになる可能性が示された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ueno Y. The current endeavors to understand the pathogenesis of intractable liver diseases. The Tohoku journal of experimental medicine. 2012; 226(3): 171-5.
2. Quinn M, Ueno Y, Pae HY, Huang L, Frampton G, Galindo C, Francis H, Horvat D, McMillin M, Demorrow S. Suppression of the HPA axis during extrahepatic biliary obstruction induces cholangiocyte proliferation in the rat. American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology. 2012; 302(1): G182-93.
3. Ninomiya M, Ueno Y, Shimosegawa T. PBC: Animal Models of Cholangiopathies and Possible Endogenous Viral Infections. International journal of hepatology. 2012; 2012: 649290.
4. Ninomiya M, Ueno Y, Funayama R, Nagashima

T, Nishida Y, Kondo Y, Inoue J, Kakazu E, Kimura O, Nakayama K, Shimosegawa T. Use of illumina deep sequencing technology to differentiate hepatitis C virus variants. *Journal of clinical microbiology*. 2012; 50(3): 857-66.

5. Meng F, Francis H, Glaser S, Han Y, DeMorrow S, Stokes A, Staloch D, Venter J, White M, Ueno Y, Reid LM, Alpini G. Role of stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor in remodeling during liver regeneration. *Hepatology*. 2012; 55(1): 209-21.

6. Francis HL, Demorrow S, Franchitto A, Venter JK, Mancinelli RA, White MA, Meng F, Ueno Y, Carpino G, Renzi A, Baker KK, Shine HE, Francis TC, Gaudio E, Alpini GD, Onori P. Histamine stimulates the proliferation of small and large cholangiocytes by activation of both IP3/Ca²⁺ and cAMP-dependent signaling mechanisms. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2012; 92(2): 282-94.

2. 学会発表

1. Ninomiya M, Kondo Y, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Funayama R, Nagashima T, Morosawa T, Iwata T, Nakayama K, Ueno Y, Shimosegawa T. Characterization of circulating microRNAs in patients with primary biliary cirrhosis by Illumina deep sequencing. AASLD annual meeting, November 2012. Boston.

2. Meng FY, Francis H, Glaser S, Han YY, DeMorrow S, Stokes A, Staloch D, Venter J, White M, Ueno Y, Reid LM, Alpini G. Role of stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor in remodeling during liver regeneration. AASLD annual meeting, November 2012. Boston.

3. Kakazu E, Kondo Y, Kogure T, Ninomiya M, Kimura O, Morosawa T, Iwata T, Ueno Y, Shimosegawa T. An imbalance in plasma amino acids of advanced cirrhotic patients suppresses the maturation of dendritic cells by reducing the intracellular ATP due to interference with the mitochondrial TCA cycle. AASLD annual meeting, November 2012. Boston.

4. Glaser SS, Meng FY, Venter J, White M, Francis H, Ueno Y, Franchitto A, Onori P, Gaudio E, Alpini G. Increased synthesis of secretin from S cells and cholangiocytes during cholestasis increases large cholangiocyte proliferation by both paracrine/autocrine mechanisms. AASLD annual meeting, November 2012. Boston.

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

PDC-E2アミノ酸置換 peptide に対する AMA 反応性

研究協力者 宮川 浩 帝京大学溝口病院第四内科 非常勤講師

研究要旨: 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。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。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なった。

共同研究者

菊池健太郎 帝京大学溝口病院第四内科 准教授
M Eric Gershwin Professor, University of California at Davis

炎の出現も認められているが, B細胞 epitope の変異は立体構造の変化を来とし, xenobiotics による修飾にも影響を与える可能性が示唆された。

A. 研究目的

PBC の治療戦略上, B細胞の解析は不可欠である。PBC の B細胞は AMA を産生し, AMA の対応抗原はミトコンドリア内膜に存在するピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDC-E2) と言われている。その主要な epitope (LLAEIETDKATIGFEVQEE) にはリポ酸結合部位 (リシン:K) が含まれていることから, リポ酸に相同する xenobiotics の曝露により PDC-E2が修飾され, トランスの破綻が生じると考えられている。今回, PDC-E2の B細胞 epitope としてどのアミノ酸が AMA の認識に最も重要なのか, また xenobiotics による修飾を受ける上で重要なのかを検討した。

B. 研究方法

上述の19アミノ酸を1つずつアラニン置換した recombinant peptide を作成し, それぞれに対する AMA の反応性を ELISA で確認した。試験血清は抗 PDC-E2抗体陽性の PBC 60例を用い, 対照として SLE 30例, クローン病 20例, PSC 28例, 強皮症 20例および健常人 20例の血清を用いた。さらに, PBC 患者血清から精製した IgG 型 AMA を用いて同様に検討した。いずれの血清もカリフォルニア大学デービス校において説明と同意の上採取された。

C. 研究結果

5, 12番目のイソロイシン (I), 15番目のグルタミン酸 (E) の変異により, PBC 患者血清の AMA の反応性は wild type に比較して47.6%, 70.6%, 65.9%に減弱した。精製 IgG-AMA の反応性も同様に, wild type に比較して40.8%, 55.2%, 48.2%に減弱した。

D. 考察

現在, xenobiotics 説を裏付けるように, PBC 動物モデルには遺伝子改変による自然発症型に加え, オクテン酸やプロモヘキサン酸などの xenobiotics 投与による獲得型が作成されており, AMA のみならず胆管

E. 結論

PDC-E2の中の主要な epitope である19アミノ酸のうち, 5, 12番目のイソロイシン, 15番目のグルタミン酸が AMA の認識に重要であることが判明した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
作成中
2. 学会発表
第49回日本肝臓学会総会に発表予定

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患者に対する肝移植後再発についての臨床解析

研究分担者 上本 伸二 京都大学肝胆膵・移植外科 教授

研究要旨：自己免疫性疾患であるPBCは、肝移植のよい適応疾患であり、現在、末期PBCに対する唯一の治療法は肝移植である。肝移植後の免疫抑制剤は各施設で工夫がされているが、長期経過におけるPBC再発の予測や治療法はいまだ確立されていない。今回、当院で肝移植術を受けたPBC患者をretrospectiveに解析し、再発危険因子を同定し、予測および治療に役立てられるかを検討した。肝移植時の年齢が50歳未満、移植前IgM高値、抗ミトコンドリアM2抗体高値例にPBC再発率が高かった。免疫抑制剤による再発率の相違はみられなかった。今後、PBC再発例に対する長期の経過観察と治療法の開発が必要である。

A. 研究目的

現在、末期PBCに対する唯一の治療法は肝移植である。欧米での脳死肝移植後PBC再発は9-35%であり、免疫抑制剤による相違も報告されている。日本において生体肝移植が開始され20年以上経過し、その約10%がPBC患者であり、中長期経過におけるPBC再発が注目されている。京都大学における肝移植後PBC再発について検討し、予測や予防の可能性を目指すとともにPBCの病態解明を行う。

B. 研究方法

1994年11月から2011年11月までに京都大学医学部附属病院において生体肝移植術を受けたPBC患者94例について臨床データを解析した。レシピエントの性別は、男性5例、女性89例、年齢は、 50.7 ± 8.2 歳、MELD scoreは、 21.6 ± 9.2 、観察期間中央値は5.5年、ドナーの性別は、男性66例、女性28例、年齢は、 41.3 ± 12.3 歳、血縁61例(親3例、同胞22例、子36例)、非血縁33例(夫28例、妻2例、ドミノ1例、脳死2例)であった。解析項目は、下記である。肝移植後生存率、再発率、肝移植時年齢、移植前IgM値、IgG値、抗ミトコンドリア抗体値、抗ミトコンドリアM2抗体値、ドナー血縁の有無、血液型適合性、HLAミスマッチ数、血縁の有無、術後ACR(Acute Cellular Rejection)の有無、脾摘の有無、免疫抑制剤の種類、PBC再発症例の予後死因。

C. 研究結果

PBC患者に対する肝移植症例の1年、5年、10年生存率は、73%、72%、60%であり、同時期の他疾患成人肝移植患者の生存率、77%、69%、64%と同等であった。肝移植後1年、3年、5年、10年再発率は、それぞれ3%、13%、31%、44%であり、肝移植後長期の再発が高率であった。特にレシピエントの年齢が50歳未満の場合に有意に早期再発が多く高率であった($P=0.019$)。肝移植前IgM値が 600mg/dl 以上の症例において再発が有意に高率であった($P=0.05$)。肝移植前抗ミトコンドリアM2抗体値が180以上の症例において再発が有意に高率であった($P=0.007$)。ドナー血縁の有無やHLAミスマッチ数はPBC再発と相関

しなかった。血液型適合性、脾摘の有無、肝移植後ACRの有無とPBC再発に有意差はなかった。免疫抑制剤では、カルシニューリンインヒビターであるタクロリムス投与例とシクロスポリン投与例において、PBC再発に有意差なく、代謝拮抗剤であるミコフェノレートモフェチルの投与有無とPBC再発にも有意差はなかった。移植後6年以降にPBC再発症例の生存率は低下する傾向があり、死因として肝不全と新規癌を認めた。

D. 考 察

当院におけるPBC症例に対する肝移植94例の解析により、肝移植後PBC再発は、

1. 組織学的診断は6ヶ月以降であり、10年で44%と高率であった。
2. 移植時レシピエントが50歳未満の症例に高率であった。
3. 肝移植前IgMやAMA-M2が高値の症例に高率であった。
4. ドナーの血縁有無やHLA mismatch数と相関は認めなかった。
5. 長期経過後、肝不全や新規悪性腫瘍による死亡症例が出現した。

以上から、PBCに対する肝移植において、

1. 移植後再発の早期診断にはプロトコール肝生検が必要である。
2. 移植前IgMやAMA-M2値が再発予測に有用である。
3. 若年で肝移植に至るまでに進行した症例は、移植後早期再発が起りやすい。
4. 組織学的再発率は高いが、進行は緩徐である。今後、長期経過中に肝不全や発癌に至る症例が増加する可能性がある。
5. 再発予防や再発後治療法の確立が課題である。

今後の展望

当院では成人生体肝移植術を年間約60例行っており、そのうちPBC症例は、4-8例である。これまで日本では肝移植症例の98%以上は生体ドナーで行わ

れ、ドナー不足が最大の問題であったが、平成22年の臓器移植法改正以降、脳死ドナーが増加し、約10%になっている。今後、本邦におけるPBCの病態解析、病型分類、予後予測、新たな治療法の開発、さらに、肝移植後の再発や予後、生体ドナーと脳死ドナーの相違が明らかになることが期待できる。

E. 結 論

肝移植のよい適応疾患であると考えられているPBC患者において、肝移植後の経過を詳細に観察し、PBC再発の予防や予測、さらには治療法を確立し、長期予後の改善に繋げることが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 森章, 吉澤淳, 八木真太郎, 伊藤孝司, 海道利実, 小倉靖弘, 小川晃平, 秦浩一郎, 内田洋一郎, 富山浩司, 上本伸二, 原発性胆汁性肝硬変に対する肝移植後の中長期成績, 第30回日本肝移植研究会, 福岡, 2012年。
2. 森章, 吉澤淳, 海道利実, 小倉靖弘, 秦浩一郎, 八木真太郎, 飯田拓, 内田洋一郎, 富山浩司, 上本伸二, 原発性胆汁性肝硬変に対する肝移植の長期成績, 第67回日本消化器外科学会総会, 名古屋, 2011年。

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

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

研究協力者 西原 利治 高知大学医学部 消化器内科学 教授

研究要旨：毛細胆管から分泌される胆汁は細胆管，小葉間胆管を経て門脈域に至る。中年女性に多発する代表的な自己免疫性肝疾患である原発性胆汁性肝硬変（PBC）はその通路の中で，特に小葉間胆管を標的とする非化膿性破壊性胆管炎を生じることで知られている。胆管上皮に障害が生じれば，破綻した tight junction を通じて胆汁が胆管外に流出して，より強い組織障害が惹起される。

その過半を占める NAFLD は肝硬変を経て，肝細胞癌を発症する生活習慣病である。なかでも，特に高危険群とされる NASH が検診受診者の 2% を占めることが今回明らかとなった。今後，この疾患が肝硬変や肝細胞癌の最大の発生母地となることが危惧される。ようやくウイルス性肝疾患に伴う肝細胞癌の発症が峠を越えかけた時期に当たり，こうして新たな課題が突きつけられたため，我々は線維化の進展した NASH を非観血的にスクリーニングする方法や肝発癌の高危険群の同定法を開発した。この成果を基に，この発癌に至る新興生活習慣病の診断法について速やかに周知を計ると共に，肝疾患関連死の頻度を抑制することのできる新規治療法の開発を急ぐ必要がある。

A. 研究目的

aquaporin は胆管内腔に水を分泌するためのチャンネルであることから，細胞には多様な aquaporin 種の発現が知られており，相補的に機能している。その一例が毛細胆管であり，分泌される胆汁は細胆管，小葉間胆管を経て門脈域に至る。その過程で胆管上皮細胞は胆汁の吸収と aquaporin 1 を介した水の分泌を行い，胆管内腔の胆汁酸濃度を調整している。

代表的な自己免疫性肝疾患である原発性胆汁性肝硬変（PBC）では胆汁の流路，特に小葉間胆管に局限した非化膿性破壊性胆管炎を生じ，破綻した胆管上皮細胞の tight junction から胆汁が胆管外に漏出して強い組織障害を惹起する。本症は閉経期以降の女性に多発するため，その発症には女性ホルモンの影響が大きいと想定されるが，なぜ閉経期以降に本症が多発するのか，その詳細は未だ明らかでない。そこで，PBC 症例の胆管上皮では健常者に比して aquaporin 1 の発現と管腔内側への分布は減弱しており，aquaporin 5 mRNA の発現は検出できなかったことを受けて，本年度は胆管上皮に発現するエストロゲンによりその発現が誘導される aquaporin に着目し，その胆管上皮での発現とその制御機構の一端を明らかにすることとした。

B. 研究方法

estradiol を欠損する aromatase 欠損マウス (ArKO) に estradiol を皮下投与して，無処置の ArKO ならびに野生雌性および雄性マウスを比較対照群として，肝組織における aquaporin mRNA 発現量の変化を網羅的に定量した。さらに，胆管内腔側に分布する aquaporin 量に応じて水の管腔内側への移行が生じることから，肝組織標本を用いて aquaporin の胆管上皮内分布を検討した。

(倫理面の配慮)

検討は高知大学医学部倫理委員会の指導と承認のもとに行われた。

とに行われた。

C. 研究結果

無処置の ArKO ならびに野生雌性および雄性マウスの胆管上皮について免疫組織学的検索を行ったところ，aquaporin 1 の発現が観察された。その主な局在は細胞質であり，胆管内腔側にも分布が認められた。しかし，ArKO マウスにおける aquaporin 1 mRNA の発現量に関しては 1/3 程度に減弱していた。

次に estradiol を皮下投与した ArKO マウスについて aquaporin 1 の発現を免疫組織学的に検討したが，その局在と胆管内腔側への分布は無処置群と明らかな差異を認めなかった。また，1/3 に減弱していた aquaporin 1 の mRNA の発現量は 2.7 倍に増強され，無処置群における発現レベルまで回復した。さらに，aquaporin 5 の mRNA の発現は無処置群の 4.3 倍に増加していた。

以上の成績から，胆管上皮に発現する aquaporin 1 mRNA の発現量はエストロゲンの血中濃度が低下すると減少し，エストロゲンの補充により aquaporin 1 mRNA の発現量は回復し，aquaporin 5 mRNA の発現量を増強することが明らかになった。

D. 考察

移送される水の量により胆汁中の胆汁酸の濃度が規定されるため，移送される水の量は胆石の生成や胆管上皮傷害の進展に関与する可能性がある。今年度の研究では，胆管上皮から分泌される水の移送に関与する aquaporin 1 の発現を検討した。

また，閉経により血清エストロゲン濃度が低下するため，エストロゲン依存性に mRNA 発現が変動する aquaporin について検討し，胆管に発現する主要な aquaporin 1 に加え aquaporin 5 の mRNA がエストロゲンの制御下にあることが明らかとなったことから，今後はその制御機構の解明が求められる。

E. 結 論

Aquaporin は全ての細胞に発現しており、水の出納に深く関与している。エストロゲンが aquaporin の発現制御に関与するとの今回の成績は、原発性胆汁性肝硬変の病態理解に基づいた厚生労働政策を策定するに当たって極めて重要な基本情報と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Eguchi Y, Hyogo H, Ono M, Mizuta T, Ono N, Fujimoto K, Chayama K, Saibara T; JSG-NAFLD. Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study. *J Gastroenterol.* 2012; 47: 586-595.
- 2) Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, Yasui K, Saibara T, Hashimoto E, Kawanaka M, Watanabe S, Kawata S, Imai Y, Kokubo M, Shima T, Park H, Tanaka H, Tajima K, Yamada R, Matsuda F, Okanoue T. Genetic Polymorphisms of the Human PNPLA3 Gene Are Strongly Associated with Severity of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Japanese. *PLoS One* 2012; 7, e38322.
- 3) Sumida Y, Yoneda M, Hyogo H, Itoh Y, Ono M, Fujii H, Eguchi Y, Suzuki Y, Aoki N, Kanemasa K, Fujita K, Chayama K, Saibara T, Kawada N, Fujimoto K, Kohgo Y, Yoshikawa T, Okanoue T, JSG-NAFLD. Validation of the FIB4 index in a Japanese nonalcoholic fatty liver disease population. *BMC Gastroenterol.* 2012; 12: 2.
- 4) Yoneda M, Imajo K, Eguchi Y, Fujii H, Sumida Y, Hyogo H, Ono M, Suzuki Y, Kawaguchi T, Aoki N, Sata M, Kanemasa K, Kohgo Y, Saibara T, Chayama K, Itoh Y, Yoshikawa T, Anzai K, Fujimoto K, Okanoue T, Nakajima A; Japan Study Group of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (JSG-NAFLD). Noninvasive scoring systems in patients with nonalcoholic fatty liver disease with normal alanine aminotransferase levels. *J Gastroenterol.* 2012 Nov 27. [Epub ahead of print]
- 5) Yasui K, Hashimoto E, Tokushige K, Koike K, Shima T, Kanbara Y, Saibara T, Uto H, Takami S, Kawanaka M, Komorizono Y, Okanoue T: The Japan NASH Study Group. Clinical and pathological progression of non-alcoholic steatohepatitis to hepatocellular carcinoma. *Hepato Res* 2012; 42: 767-773.
- 6) Masuda K, Ono M, Fukumoto M, Hirose A, Munekage K, Ochi T, Okamoto N, Akagi N, Ogawa Y, Saibara T. Usefulness of Technetium-99 m-2-methoxy-isobutyl-isonitrile liver scintigraphy for evaluating disease activity of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepato Res.* 2012, 42: 273-279.
- 7) Ono M, Saibara T. Is impaired Kupffer cell function really important to the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis? *J Gastroenterol Hepato Res.* 2012; 27: 622-4.
- 8) Taniuchi K, Yokotani K, Saibara T. BART inhibits pancreatic cancer cell invasion by PKC alpha inactivation through binding to ANX7. *PLoS One* 2012, 7: e35674
- 9) Taniuchi K, Yokotani K, Saibara T. BART inhibits pancreatic cancer cell invasion by Rac1 inactivation through direct binding to active Rac1. *Neoplasia* 2012; 12: 440-450.
- 10) Viet Do HT, Toda K, Saibara T, Yagi T. Abnormality in expression levels of gluconeogenesis-related genes by high-dose supplementation with pyridoxamine in mice. *Int J Vitam Nutr Res* 2012; 82:34-40.
- 11) Toda K, Ono M, Yuhki K, Ushikubi F, Saibara T. 17beta-Estradiol is critical for the preovulatory induction of prostaglandin E2 synthesis in mice. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 362: 176-182.
- 12) Toda K, Hayashi Y, Ono M, Saibara T. Impact of ovarian sex steroids on ovulation and ovulatory gene induction in aromatase-null mice. *Endocrinology* 2012; 153: 386-394.
- 13) 西原利治, 湯川晋弘, 腰山裕一, 小野正文: 糖尿病とNASH/NAFLD. *肝胆膵* 65: 803-808, 2012
- 14) 西本正子, 越智経浩, 西原利治: NASH/NAFLDの疫学～小児と成人における相違～ *医薬ジャーナル* 48: 63-68, 2012
- 15) 小野正文, 岡本宣人, 西原利治: NASH患者からの肝癌発症の頻度と危険因子 *肝胆膵* 65: 1023-1028, 2012
- 16) 西原利治, 小野正文: 8非アルコール性脂肪性肝疾患, 林紀夫・日比紀文・上西紀夫・下瀬川徹編, *Annual Review 2012 消化器*, 139-144, 中外医学社, 東京, 2012
- 17) 小野正文, 西原利治: NASH/NAFLDの疫学, 岡上武編 *症例に学ぶNASH/NAFLDの診断と治療*, 2-6, 診断と治療社, 東京, 2012
- 18) 西原利治: 非アルコール性脂肪肝炎では冠動脈疾患のリスクが高くなるのですか? 小室一成, 山岸昌一編集 *糖尿病と血管合併症に関する100の質問*, 128-129, メディカルビュー社, 東京, 2012
- 19) 西原利治, 羽柴基, 小野正文: 二次性糖尿病慢性肝疾患と耐糖能異常 *最新臨床糖尿病学*

下, 165-169, 日本臨床社, 東京, 2012

- 20) 西原利治, 小野正文: 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の診断基準 消化器疾患の診断基準, 病型分類, 重症度の使い方 199-203, 日本メディカルセンター, 東京, 2012
 - 21) 西原利治, 小野正文: アルコール性脂肪性肝疾患 消化器疾患診療のすべて 跡見裕・井廻道夫・北川雄光・下瀬川徹・田尻久雄・渡辺守編 S271-S273, 日本医師会, 東京, 2012
 - 22) 西原利治, 小野正文: 脂肪肝 新臨床栄養学 馬場忠雄, 山城雄一郎編 569-574, 医学書院, 東京, 2012
 - 23) 西原利治: アルコール性肝障害, 山口徹・北原光夫・福井次夫編, 今日の治療指針 私はこう治療している TODAY'S THERAPY 2012, 医学書院480-481, 2012.
2. 学会発表
- 1) 小野正文, 宇都浩文, 西原利治: NASH/NAFLD 診療ガイドライン～疫学に関するミニレビュー～. 第98回日本消化器病学会総会. パネルディスカッション「日本消化器病学会診療ガイドライン (NASH・NAFLD) を目指して」, 東京, 2012.
 - 2) 安居幸一郎, 橋本悦子, 徳重克年, 小森園康二, 小池和彦, 有井滋樹, 今井康陽, 西原利治, 岡上武: 肝細胞癌を発症したNASH患者の臨床病理学的特徴 第48回日本肝臓学会総会 ワークショップ8: NASH/NAFLD から進展する肝硬変・肝癌の現状と対応, 金沢, 2012. 6. 7
 - 3) 西原利治: 肥満症と脂肪肝 非アルコール性脂肪肝炎の診断と治療. 第33回日本肥満学会. 教育講演, 京都, 2012.

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

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
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）
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）
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）
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－
②劇症肝炎における高精度予後予測システムの実用化
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
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
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
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
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
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
大阪大学大学院医学系研究科 消化器内科学 竹原 徹郎

登録論文目録 (C-D)

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
鹿兒島大学大学院 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
鳥取大学大学院 遺伝子医療学 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
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
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
横浜市立大学 荒田 慎寿
13. 急性肝不全における ADAMTS13の動態
奈良県立医科大学 第三内科 福井 博

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）

劇症肝炎分科会
分担研究報告書

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

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

研究要旨：厚労省研究班は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。ワーキンググループ-Iでは、この基準に準拠した急性肝不全の診断に際して用いる「成因分類法」の確立を目指して、同研究班に登録された2004～2009年の劇症肝炎およびLOHF症例における成因の診断根拠を解析した。その結果、B型症例における急性感染例とキャリア例の鑑別診断および自己免疫性、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ことが課題である。

ワーキンググループ-I

滝川 康裕 岩手医科大学 消・肝内科
藤原 慶一 千葉大学 腫瘍内科学
中山 伸朗 埼玉医科大学 消・肝内科
山岸 由幸 慶應義塾大学 消化器内科
市田 隆文 順天堂大学静岡病院 消化器内科
内木 隆文 岐阜大学 第一内科
桶谷 真 鹿児島大学 消化器・生活習慣病

A. 研究目的

わが国における劇症肝炎、遅発性肝不全（LOHF）は、病理組織学的にリンパ球浸潤などの肝炎像を呈する急性肝不全に限定しており、その成因はウイルス性、薬物アレルギーおよび自己免疫性に限定している^{1, 2)}。また、診断に際して、プロトロンビン時間（PT）が40%以下であることを基準としているが、欧米ではINRが一般化しており、両者の成績を比較するのが困難である。そこで、厚労省研究班は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³⁾。厚労省研究班は平成23年度以降、同基準に準拠して急性肝不全の全国集計を実施し、平成23年度は2010年に発症した急性肝不全211例とLOHF 9例が^{4, 5)}、平成24年度には2011年の発症例としてそれぞれ282例と7例が登録された⁶⁾。その際には、共通した基準によって成因を診断することが必要があり、現在は2002年に厚労省研究班が発表した「劇症肝炎、LOHFの成因分類」を用いている¹⁾。しかし、その後の10年間でウイルス検査法の測定系などが変化し、この分類に関する基準は見直す必要が生じている。

そこで、ワーキンググループ（WG-1）では、全国集計に登録された症例を、成因分類の見直しを行っている。平成23年度は2004～2009年の登録症例を対象として検討を行ったが、平成24年度は2010年以降の症例も追加し、肝炎以外の症例も含めた「成因分類」の確

立を目指している。

B. 研究方法

厚労省研究班が平成17～22年度に実施した全国調査に登録された劇症肝炎460例（急性型227例、亜急性型233例）とLOHF28例および平成23～24年の調査に登録された急性肝不全493例とLOHF16例を対象に、適切な成因分類を検討した。

C. 成績と考案

1. B型急性感染例とキャリア例の診断

登録症例で急性感染例とキャリア例を区分するためには、CLIA法で10 S/COをcut-off値としてIgM-HBc抗体価とHBc抗体価を組み合わせるのが適切であるが、今後新たな測定キットが発売され、また、施設によって用いるキットが異なることを配慮して、診断基準には「高力価」、「低力価」とのみ記載することにした。また、肝不全を発症する前のウイルスマーカーが判明している場合を「確診例」、肝不全発症時の抗体価で鑑別した症例は「疑診例」としたが、この区分は排除することにした。

2. 自己免疫性肝炎の診断

「自己免疫性肝炎」分科会とともに検討を行った。当初は、自己免疫性であることが確実な症例のみを抽出する基準を作成し、「成因不明例ないし薬物性症例にも自己免疫性症例が含まれている可能性がある」ことを付記する方針であった。しかし、これによって副腎皮質ステロイドによる治療が遅れることが危惧され、偽陽性症例が増加する可能性はあるが、より広範に症例を抽出する可能性がある基準を作成することにした。このため抗核抗体は力価を設定せず、「陽性」であることを基準とし、血清IgG濃度は「自己免疫性肝炎」分科会の見解に一致させて「正常上限の1.1倍」をcut-offにすることとした。なお、この基準に準じると、2011年に発症した自己免疫性症例で、何れの基準も満たさない症例は存在しなかった⁶⁾。

なお、旧基準では国際診断基準と副腎皮質ステロイ

ドへの反応性によって、「確診例」と「疑診例」に区分していたが、国際診断基準では「疑診」でありながら、急性肝不全の診断では「確診」になるといった矛盾が生じるため、廃止することとした。

3. 薬物性肝障害の診断

薬物性症例で「DDW-J 2004薬物性肝障害ワークショップ」⁷⁾の有用性を検討したが、急性肝不全症例ではこれに準拠することの問題点が指摘され、また、D-LSTの診断能にも限界があることから、「臨床経過」を基に診断することとした。肝炎例（アレルギー性）と肝炎以外の症例も「薬物の種類、量と臨床経過」から鑑別することにした。

4. 肝炎以外の症例の診断

循環障害、悪性腫瘍の肝浸潤、代謝性疾患、術後肝不全など、成因ごとに診断基準を作成することを試みた。しかし、このような基準は原疾患の診断に役立つものの、原疾患が肝不全の要因であることを必ずしも示すものではないことから、「臨床経過」から診断することとして、診断基準には想定される疾患名を列挙することにした。

D. 結論

以上の検討を基に表1のような成因の「診断基準」(案)を作成した。再度、2004～2011年の症例を対象に validation を行い、他領域の専門家の意見も参照として、最終的な基準として発表する予定である。

E. 参考文献

1. Fujiwara K, *et al.* Hepatol Res 2008; 38: 646-657.
2. Oketani M, *et al.* Hepatol Res (in press)
3. Mochida S, *et al.* Hepatol Res 2011; 41: 805-812.
4. 持田 智, *et al.* 厚生労働省科学研究費補助金(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班」平成23年度報告書, 2012; pp101-112.
5. Sugawara K, *et al.* J Gastroenterol 2012; 47: 849-861.
6. 持田 智, *et al.* 厚生労働省科学研究費補助金(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班」平成24年度報告書, 2013; (in print).
7. 滝川 一. 肝臓 2007; 48: 207-209.

急性肝不全, LOHFの成因分類 (案)

- I. ウイルス性: 以下のウイルス検査等の基準を満たし、臨床経過から当該ウイルスが肝障害の原因と考えられる症例
- ① A型: IgM-HAV抗体陽性
 - ② B型: HBs抗原, IgM-HBc抗体ないしHBV-DNAが陽性
 - ③ C型: HCV抗体ないしHCV-RNAが陽性の症例
 - ④ E型: IgA-HEV抗体ないしHEV-RNAが陽性の症例
 - ⑤ その他のウイルス: EBV, CMVなどの急性感染, 再活性化を抗体ないし遺伝子検査で証明した症例

Gastroenterology & Hepatology, Saitama Medical University

急性肝不全, LOHFの成因分類 (案)

1. 急性感染例: 以下の2項目のうち、いずれかに該当する症例
- ・発症前にHBs抗原が陰性で1年以内に免疫抑制・化学療法の未実施例
 - ・IgM-HBc抗体が高力価かつHBc抗体が低力価の症例
2. キャリア例: 以下の3項目のうち、いずれかに該当する症例
- ・発症前にHBs抗原が陽性の症例
 - ・発症前にHBs抗原陰性, HBc抗体ないしHBs抗体が陽性で、1年以内に免疫抑制・化学療法を実施した症例
 - ・IgM-HBc抗体が低力価でHBc抗体が高力価の症例
 - i. 無症候性キャリア (誘因なし): 以下の2項目のうち、いずれかに該当する症例
 - ・発症前にHBs抗原が陽性で、1年以内に免疫抑制・化学療法の未実施例
 - ・IgM-HBc抗体が低力価, HBc抗体が高力価で、1年以内に免疫抑制・化学療法の未実施例
 - ii. 無症候性キャリアの再活性化例: 以下の2項目のうち、いずれかに該当する症例
 - ・発症前にHBs抗原が陽性で、1年以内に免疫抑制・化学療法の実施した症例
 - ・IgM-HBc抗体が低力価, HBc抗体が高力価で、1年以内に免疫抑制・化学療法を実施した症例
 - iii. 既往感染の再活性化例 (*de novo* B型肝炎)
 - ・発症前にHBs抗原陰性, HBc抗体ないしHBs抗体が陽性で、1年以内に免疫抑制・化学療法の実施例
3. 分類不能例: 上記の何れにも該当しない症例

Gastroenterology & Hepatology, Saitama Medical University

急性肝不全, LOHFの成因分類 (案)

- II. 自己免疫性: 国際診断基準を満たす症例, または抗核抗体陽性ないし血清IgG濃度が正常上限の1.1倍以上の症例*
- * 上記基準を満たさない成因不明例ないし薬物性症例にも自己免疫性肝炎が含まれている可能性を念頭において治療を開始する
- III. 薬物性: 臨床経過から内服している薬物が肝障害の原因と考えられる症例
- ① アレルギー性 (肝炎症例) **
 - ② 中毒性 (肝炎以外の症例) **
- ** アレルギー性と中毒性は、薬物の種類、量および臨床経過によって分類する
- IV. その他の肝炎以外の症例: 臨床経過に基づいて以下の成因に分類する
- ① 循環障害***
 - ② 代謝性: Wilson病, 神経性食欲不振症, 急性妊娠脂肪肝, Reye症候群など
 - ③ 悪性腫瘍の肝浸潤
 - ④ 肝切除後ないし肝移植後肝不全 (primary nonfunction)
 - ⑤ その他
- *** 肝切除後の術後肝不全, 感染症ないしDICに伴う肝不全, 熱中症などは循環障害に分類する
- V. 成因不明: 十分な検査を実施したにも拘らず, 上記の何れにも分類されない症例
- VI. 評価不能: 十分な検査を実施されていないため, 上記の何れにも分類されない症例

Gastroenterology & Hepatology, Saitama Medical University

表1 急性肝不全の成因分類 (案)

- I. ウイルス性：以下のウイルス検査等の基準を満たし、臨床経過から当該ウイルスが肝障害の原因と考えられる症例
- I - ① A型：IgM-HAV 抗体陽性
 - I - ② B型：HBs 抗原、IgM-HBc 抗体ないし HBV-DNA が陽性
 - I - ② - 1. 急性感染例：以下の2項目のうち、いずれかに該当する症例
 - ・発症前に HBs 抗原が陰性で1年以内に免疫抑制・化学療法の未実施例
 - ・IgM-HBc 抗体が高力価かつ HBc 抗体が低力価の症例
 - I - ② - 2. キャリア例：以下の3項目のうち、いずれかに該当する症例
 - ・発症前に HBs 抗原が陽性の症例
 - ・発症前に HBs 抗原陰性、HBc 抗体ないし HBs 抗体が陽性で、1年以内に免疫抑制・化学療法を実施した症例
 - ・IgM-HBc 抗体が低力価で HBc 抗体が高力価の症例
 - I - ② - 2 - i. 無症候性キャリア (誘因なし)
 - 以下の2項目のうち、いずれかに該当する症例
 - ・発症前に HBs 抗原が陽性で、1年以内に免疫抑制・化学療法の未実施例
 - ・IgM-HBc 抗体が低力価、HBc 抗体が高力価で、1年以内に免疫抑制・化学療法の未実施例
 - I - ② - 2 - ii. 無症候性キャリアの再活性化例
 - 以下の2項目のうち、いずれかに該当する症例
 - ・発症前に HBs 抗原が陽性で、1年以内に免疫抑制・化学療法の実施した症例
 - ・IgM-HBc 抗体が低力価で HBc 抗体が高力価で、1年以内に免疫抑制・化学療法を実施した症例
 - I - ② - 2 - iii. 既往感染の再活性化例 (*de novo* B型肝炎)
 - ・発症前に HBs 抗原陰性、HBc 抗体ないし HBs 抗体が陽性で、1年以内に免疫抑制・化学療法を実施した症例
 - I - ② - 2. 分類不能例：・上記の何れにも該当しない症例
 - I - ③ C型：HCV 抗体ないし HCV-RNA が陽性の症例
 - I - ④ E型：IgA-HEV 抗体ないし HEV-RNA が陽性の症例
 - I - ⑤ その他のウイルス：EBV, CMV などの急性感染、再活性化を抗体ないし遺伝子検査で証明した症例
- II. 自己免疫性：国際診断基準を満たす症例、または抗核抗体陽性ないし血清 IgG 濃度が正常上限の1.1倍以上の症例*
- * 上記基準を満たさない成因不明例ないし薬物性症例にも自己免疫性肝炎が含まれている可能性を念頭において治療を開始する
- III. 薬物性：臨床経過から内服している薬物が肝障害の原因と考えられる症例
- III - ① アレルギー性 (肝炎症例)**
 - III - ② 中毒性 (肝炎以外の症例)**
- ** アレルギー性と中毒性は、薬物の種類、量および臨床経過によって分類する
- IV. その他の肝炎以外の症例：臨床経過に基づいて以下の成因に分類する
- IV - ① 循環障害***
 - IV - ② 代謝性：Wilson 病、神経性食欲不振症、急性妊娠脂肪肝、Reye 症候群など
 - IV - ③ 悪性腫瘍の肝浸潤
 - IV - ④ 肝切除後ないし肝移植後肝不全 (primary nonfunction)
 - IV - ⑤ その他
- *** 肝切除後の術後肝不全、感染症ないし DIC に伴う肝不全、熱中症などは循環障害に分類する
- V. 成因不明：十分な検査を実施したにも拘らず、上記の何れにも分類されない症例
- VI. 評価不能：十分な検査を実施されていないため、上記の何れにも分類されない症例

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)

劇症肝炎分科会
分担研究報告書
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)

研究協力者 坂井田 功 山口大学大学院医学系研究科 消化器病態内科学 教授

研究要旨：本研究は、HBV キャリア急性増悪による重症肝炎を対象集団とし、劇症化予防に対する早期免疫抑制療法の有効性と安全性を明らかにすることを目的とする。各施設において、登録している免疫抑制方法を用いて行う。現時点では昨年と同様の4例の登録数にとどまっていた。今後症例の増加は期待しがたく、班員との相談のうえ本研究は中止することとなった。

A. 研究目的

本研究は、HBV キャリア急性増悪による重症肝炎を対象集団とし、劇症化予防に対する早期免疫抑制療法の有効性と安全性を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

多施設パイロット試験 (各施設で治療群を選択する registry 形式)

各施設で選択した治療方法以外で治療した場合にも登録、転帰調査を行う。

参加施設は難治性の肝・胆道疾患に関する研究班 (内科系29施設) およびその関連施設

主要エンドポイントは肝性脳症の発現 (劇症化)、副次エンドポイントは、死亡、HBV-DNA、HBe 抗原、HBe 抗体、総ビリルビン、直接ビリルビン/総ビリルビン比、プロトロンビン時間 (PT)、HGF 濃度、AST、ALT とする。

C. 研究結果

現在のところ4例の症例登録がなされている。

1. ステロイド+抗ウイルス剤+IFN 投与がなされた
劇症化2例、非劇症化2例の登録があった。
2. 劇症化例においては肝炎発現後長時間が経っている可能性が高く、治療スタートが遅い可能性が高い。
3. エントリー症例はいずれも高齢者で肝移植の適応はない症例であった。
4. 関連病院で患者発見の場合、移植施設との連携登録施設を介さないケースもあり、登録にこぎつけないケースもあった。

D. 考察

抗ウイルス剤の使用により、HBV キャリア急性増悪例が減ってきている可能性がある。今後は実態調査として de novo 肝炎も含めた、HBV 急性増悪例も考慮していく必要性も考えられる。

E. 結論

現時点では劇症化予防に対する早期免疫抑制療法の有効性と安全性を明らかにするほどの症例が集まらなかった。抗ウイルス剤の登場により疾患そのものが減少していることがあげられる。これ以上の症例蓄積が困難であることが予想され、本研究は中止することとなった。

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
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

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)

劇症肝炎分科会
分担研究報告書
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)

研究協力者 坂井田 功 山口大学大学院医学系研究科 消化器病態内科学 教授

研究要旨：本研究は、2006年1月～2011年12月におけるHBVキャリア急性増悪による重症肝炎を対象集団とし、早期免疫抑制療法を含めた治療法による転帰等を後ろ向きに調査することで、劇症化予防に対する早期免疫抑制療法の有効性と安全性を明らかにすることを目的とする。

A. 研究目的

本研究は、2006年1月～2011年12月におけるHBVキャリア急性増悪による重症肝炎を対象集団とし、早期免疫抑制療法を含めた治療法による転帰等を後ろ向きに調査することで、劇症化予防に対する早期免疫抑制療法の有効性と安全性を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

- 1) 研究の種類・デザイン
後ろ向き調査研究 (多施設共同研究)
- 2) 研究のアウトライン
 - (1) 各施設の専任の医師が適格性を確認の上、症例を選定する。
 - (2) 各施設の番号を振って調査票に記載し、研究事務局に送付する。
 - (3) 得られた調査票から、データを抽出し解析を行う。主要エンドポイントはステロイド治療による劇症化予防効果で、副次エンドポイントは、転帰、HBV-DNA、HBe抗原 (HBe抗原陽性例)、HBe抗体、総ビリルビン、直接ビリルビン、プロトロンビン時間 (PT:%, INR), AST, ALT, Alb, NH₃, HGF濃度、その他患者背景のプロファイルとする。
- 4) 研究組織
難治性の肝・胆道疾患に関する研究班およびその関連施設 (内科系28施設)

C. 研究結果

現在のところ45例の症例登録がなされている。

- ①核酸アナログ単独 5症例
- ②核酸アナログ+ IFN 3症例
- ③核酸アナログ+ステロイドパルス 22症例
- ④核酸アナログ+ IFN +ステロイドパルス 10症例
- ⑤核酸アナログ+ IFN + (ステロイドパルス or not)
+サイクロスポリン 3症例

の報告があった。現時点では登録途中であるため、今後症例の蓄積を待って、解析を行う予定である。

D. 考察

抗ウイルス剤の使用により、HBVキャリアー急性増悪例が減ってきている可能性がある。実態調査としてde novo肝炎も含めた、HBV急性増悪例も考慮していく必要性も考えられる。

E. 結論

今後症例を蓄積していく。

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
2013年第49回日本肝臓学会総会において発表予定である。

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)

劇症肝炎分科会
分担研究報告書
ワーキンググループ-Ⅲ

急性肝不全に対する Online HDF の安全性・有効性の評価 (中間報告)

研究協力者 横須賀 収 千葉大学大学院医学研究院 消化器・腎臓内科学 教授

研究要旨：本研究は、昨年施行した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調査の結果を踏まえ、Online HDF を中心とした血液浄化療法の有効性を検証することを目的とする。今回は、急性肝不全症例に対する Online HDF の施行条件、臨床効果、転帰を調査した。

ワーキンググループⅢ

織田 成人 千葉大学大学院 救急集中治療医学
教授
荒田 慎寿 横浜市立大学 高度救命救急センター
准教授
滝川 康裕 岩手医科大学 消化器・肝臓内科
教授
井上 和明 昭和大学藤が丘病院 消化器内科
准教授
井戸 章雄 鹿児島大学大学院 消化器疾患・生活
習慣病学 准教授
藤原 慶一 千葉大学大学院 消化器・腎臓内科学
安部 隆三 千葉大学大学院 救急集中治療医学

A. 研究目的

劇症肝炎の救命率、特に内科的治療による救命率は、改善していない。劇症肝炎症例の救命のためには、人工肝補助療法による肝性昏睡からの回復と全身状態の維持が不可欠である。

WG-Ⅲでは、2011年に、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調査を行い、全国の125施設から回答を得た。今回、その結果を踏まえ、将来的に急性肝不全に対する人工肝補助療法の中心的役割を果たすことになるとと思われる online HDF に関して、その施行方法、臨床効果、および転帰について調査し、その有効性を検証することとした。

B. 研究方法

前回の調査によって判明した、Online HDF 施行経験の豊富な施設に対して、施行方法に関するアンケート調査を行った。

アンケート項目は、以下の通りである。

1. 急性肝不全症例に対する online HDF の開始基準、
2. 使用するコンソール、
3. 血液濾過器の種類、
4. 血流量、
5. 透析液流量、
6. 濾液量、
7. 補液量、
8. 使用する抗凝固薬、
9. 精製水製造システム、
10. 第1日目の血液浄化量、
11. 第2日目以降の血液浄化量。

続いて、臨床効果に関する検討のために、千葉大学医学部附属病院 ICU において劇症肝炎症例に対して Online HDF を施行した症例の、アンモニア血中濃度、ビリルビン血中濃度、意識覚醒率、および転帰を調査

した。また、合併症の有無に関しても調査した。

C. 研究結果

千葉大学医学部附属病院 (以下、千葉大)、昭和大学藤が丘病院 (以下、昭和大学)、横浜市立大学高度救命救急センター (以下、横浜市大) の3施設に対して行った Online HDF 施行条件に関する調査の主な結果は、以下の通りである。

1. 開始基準は、千葉大、横浜市大では肝性昏睡Ⅱ度以上を呈し劇症肝炎の診断基準を満たした場合としていたが、昭和大学では症例によってⅠ度でも開始していた。
- 2, 3. 使用するコンソール、および血液濾過器は、いずれも概ね同様であったが、血液濾過器の膜面積は1.5㎡から2.1㎡まで開きがあった。
4. 血液流量は、千葉大、昭和大学では200mL/min から250mL/min の間に設定されていた。横浜市大では、350mL/min に設定しており、バスキュラーアクセスカテーテルの種類が異なっていた。
- 5-7. 透析液流量と濾過液流量の和は、千葉大では500mL/min、昭和大学、横浜市大では700mL/min に設定されていた。そして補充液として、それぞれの濾過液量に応じて、200mL/min から350mL/min の速度で超純粋透析液を前希釈法で投与していた。
8. 3施設とも、抗凝固薬としてメシル酸ナファモスタットを使用していた。
9. 千葉大、昭和大学では、精製水製造システムをICU内に設置していた。
- 10, 11. 昭和大学、横浜市大では、一日当たり6時間から10時間、間欠的血液浄化法として施行していたが、千葉大では、肝性昏睡Ⅰ度以下に改善するまでは持続的に施行していた。いずれの施設においても、意識覚醒後は施行時間を短縮、または施行間隔を延長して、血液浄化量を減少させていた。

続いて、2011年4月から2012年12月に、千葉大ICUにおいて劇症肝炎に対して Online HDF を施行した6例について、検査結果と臨床経過を調査した。

6例の劇症肝炎の原因は、B型肝炎2例、自己免疫性3例、不明1例で、急性型3例、亜急性型2例、LOHF 1例であった。