

D. 考 察

肝硬変に対する脾臓摘出はCD4の低下、FOXP3の低下をもたらすことに加え、CD8の増加という抗腫瘍効果を増加させると考えられる。また線維化の改善にともない、制御性T細胞と相互作用があるTGF β も減少し、肝線維化・発癌抑制に有益な環境になると考えられた。また脾臓摘出に適した時期、効果を推測出来る。

E. 結 論

肝硬変患者に対する脾臓摘出は免疫学的変化をもたらし肝線維化を改善し、更に発癌率の低下にも寄与することが推察された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Accumulation of platelets in the liver may be an important contributory factor to thrombocytopenia and liver fibrosis in chronic hepatitis C.

Kondo R, Yano H, Nakashima O, Tanikawa K, Nomura Y, Kage M. J Gastroenterol.

2012 Aug 22. (in press)

2. 学会発表

1) 肝硬変患者における脾摘が、免疫機能・発癌に及ぼす影響

野村頼子、鹿毛政義、緒方俊郎、木下壽文

第101回日本病理学会総会

2012.4.26-28

2) 肝硬変患者におかえる脾臓摘出が、免疫機能・肝線維化に及ぼす影響

野村頼子、鹿毛政義、緒方俊郎、大島孝一、

木下壽文

第53回日本リンパ網内系学会総会

2012.5.17-18

3) 特発性門脈圧亢進症に対する脾摘の効果

平川雄介、緒方俊郎、野村頼子、奥田康司、酒井久宗、安永昌史、堀内彦之、木下壽文、白水雄、鹿毛政義

第24回日本肝胆膵外科学会

2012.5.30-6.1

4) 肝内結節性病変と門脈圧亢進症 CTAPにて濃染する結節は門脈圧亢進を基盤として発生する
喜多竜一、中島 収、坂元亨宇、那須章洋、坂本 梓、斎藤澄夫、西川浩樹、木村 達、大崎往夫、若狭朋子、隈部 力、吉満研吾、鹿毛政義、大部 誠

第19回日本門脈圧亢進症学会

2012.9.19-20

5) Influence of splenectomy on cytotoxic T cell immunity, hepatic fibrosis, and hepatocarcinogenesis of liver cirrhosis with hypersplenism.

Yoriko Nomura, Masayoshi Kage,

Toshirou Ogata, Kouji Okuda, Hisafumi Kinoshita, Ohshima

Kouichi, Hirohisa Yano.

The Liver Meeting 2012-American Association for the Study of Liver Disease

2012.11.9-13

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

肝静脈系流出障害の新たな分類

— Hepatic vena cava syndrome と Budd-Chiari syndrome の疾患概念

研究分担者 鹿毛 政義（久留米大学病院病理部教授）

研究要旨

新たな Budd-Chiari 症候群（BCS）の分類を提唱する。BCS は 2 つの病型、すなわち狭義の BCS と Hepatic venous outflow obstruction（HVOO）に分類される。狭義 BCS は太い肝静脈に凝固能の異常により生じた血栓による閉塞であり、HVCS は肝部下大静脈の閉塞であり、細菌感染症などに起因する血栓性静脈炎である。ただし、2 次的に BCS は肝部下大静脈の閉塞、HVCS は肝静脈の閉塞を伴うことがある。この分類は、BCS と HVCS の其々に成因、臨床経過、予後が異なるので、治療方針の決定や経過観察を行う上で有用である。

A. 研究目的

Budd-Chiari 症候群（BCS）は、肝静脈 3 主幹あるいは肝部下大静脈の閉塞ないし狭窄、もしくはこの両者の並存によって門脈圧亢進などの症状を示す疾患と定義されている。BCS は、このように定義されているが、我々は BCS が臨床病理学的には 2 つ病型に分類され得ることを報告し、Obliterative hepatocavopathy（Hepatology 1998; 28: 1191.）という新たな疾患の概念を提唱し、臨床的な有用性を強調してきた。しかし、実臨床の場や論文に、この疾患名が使われることは少なく医学用語として普及しなかった。臨床的には BCS を 2 つの病型に分類する意義はあり、改めて新たな分類を提唱したい。

B. 研究方法

過去、本班会議で行ってきた本邦およびネパールの BCS 症例に関する臨床病理学的な諸研究の結果を踏まえ、Shrestha 先生と協同で BCS の分類を再考した。

C. 研究結果

肝静脈閉塞流出障害（Hepatic venous outflow obstruction, HVOO）は、類洞から下大静脈・右心房に至る血管系の閉塞によって生じる血行異常と定義される。HVOO は、1 次性と 2 次性の 2 つに分類される（表 1）。すなわち、1 次性は流出系血管自体の閉塞であり、2 次性は流出系血管の外部から圧迫による。さらに、HVOO は、閉塞の部位と成因によって 3 型に分類される（表 2）。すなわち、Sinusoid obstruction syndrome, SOS (Veno-occlusive disease)、BCS、Hepatic vena cava syndrome, HVCS である。SOS は類洞、中心静脈、細肝静脈の内皮細胞が肝毒性物質などにより障害されることに起因する。BCS は太い肝静脈に凝固能の異常により生じた血栓による閉塞である。つまり、我々の分類での BCS の定義は狭義の BCS となる。HVCS は肝部下大静脈の閉塞であり、成因は感染症などに起因する血栓性静脈炎である。むしろ BCS と HVCS は、それぞれに 2 次的に肝部下大静脈と肝静脈の閉塞を伴うことがある。BCS と HVCS の各々に臨床病理学的な特徴がある（表 3）。

表 1. 肝静脈流出障害 (Hepatic venous outflow obstruction) の定義

Designation	Definition
Primary	Hepatic venous outflow obstruction originating from endoluminal venous obstruction (thrombosis, thrombophlebitis or fibrotic stenosis)
Secondary	Hepatic venous outflow obstruction originating from a lesion outside the venous system (tumor, abscess, cysts). The lesion causes obstruction by invading the lumen or by extrinsic compression.

表 2. 肝静脈流出障害 (Hepatic venous outflow obstruction) の 3 つの病型

Particulars/Types	Sinusoidal Obstruction Syndrome (Veno-Occlusive Disease)	Budd-Chiari Syndrome (Hepatic Vein Thrombosis)	Hepatic Vena Cava Syndrome (Obliterative hepatocavopathy)
Primary site of lesion	Sinusoidal endothelium	Hepatic Veins	Hepatic portion of IVC
Secondary site/s	Terminal hepatic vein	PV/IVC	HV/ Radicals of HV/PV
Etiology	Toxic hepatic injury -Pyrrolizidine alkaloids -Immunosuppressive drug	Thrombosis due to -Thrombogenic/ -Hypercoagulable state	Thrombophlebitis -Bacterial infection
Epidemiology	Sporadic in person with organ transplantation/ use of PA containing herbs of wheat with PA containing seeds	Sporadic- rare	Endemic in developing countries
Clinical	Acute: hepatomegaly, ascites, jaundice	Acute/Subacute/Chronic/ rarely	Chronic with recurrent acute exacerbation
Outcome	mild/ moderate/ severe Spontaneous recovery	fulminant Acute liver failure/LC	rarely acute/ subacute LC & HCC

表 3. BCS と HVCS の相違点

	BCS	HVCS
Epidemiology	Common in the West Rare, affects mainly young women	Occurs in developing countries Endemic in Nepal, affects all age groups
Etiology	Thrombogenic conditions	Bacterial infection
Site of primary lesion	HV	IVC
Secondary/other sites	IVC	Intra -hepatic veins Ostia of main HV
Clinical presentation	Hepatomegaly, ascites, jaundice Acute/subacute/chronic Fulminant type with acute PH	Chronic indolent course, Dilated superficial veins. AEs with jaundice, ascites, edema legs, or PH Ascites associated with bacterial peritonitis
Diagnostic workup	US & color Doppler of liver, CBC count, bone marrow bx Flow cytometry for CD55 & CD59 Deficient cells, Lupus anit-coagulant, anti-cardiolipin antibodies, activated protein C resistant, protein C, protein S and antithrombin plasma level.	US & color Doppler: liver & IVC, Total & differential WBC count Aerobic blood culture LFT, AF: routine & culture for aerobic organisms.
Management	Heparin or thrombolytic therapy followed by life-long oral anti-coagulation, porto-systemic shunting Liver transplantation	Prevention of infection AE is treated with long-term antibiotic, diuretic when necessary
Course	Overall 5 year –survival rate is 65-69%	Long term survival is very good if infection is prevented.
Outcome	Multiple large regenerative nodules, rarely LC or HCC	High incidence of LC, moderate incidence of HCC

HV= hepatic vein, IVC= inferior vena cava, AE= acute exacerbation, PH= portal hypertension, AF= ascitic fluid, LC= liver cirrhosis, HCC= hepatocellular carcinoma

D. 考 察

我々の提唱する BCS (狭義) と HVCS について概説する。BCS は、主に欧米に見られ、臨床症状は、発熱、腹痛、腹水などを主症状に急激に発現する場合で、肝不全に陥り、時に肝移植の対象となる。原因は、真性多血症やプロテイン S 欠損症などの血液凝固疾患、経口避妊薬服用など成因为明瞭な例が多い。病理学的には病変の主座は太い肝静脈や肝静脈口の血栓性閉塞であり、下大静脈の閉塞を合併することもある。肝細胞癌の合併はまれである。一方、HVCS は、日本や発展途上国のネパールや南アフリカに見られる。臨床症状の発現の時期が明らかでなく、慢性に緩徐に経過する例が多い。進行すると、うっ血肝から、うっ血性肝線維症、さらには肝硬変

に進展し、国や地域によって頻度は異なるが、比較的高率に肝細胞癌と門脈圧亢進症を合併する。原因は不明な症例が多く、特発性 BCS と呼ばれてきた症例の多くが HVCS と考えられる。病理学的には病変の主座は肝部下大静脈であり、2 次的に太い肝静脈の閉塞を伴うことがある。細菌感染が契機となる。

E. 結 論

我々が提唱する BCS の分類について説明した。BCS と HVCS の 2 つの病型は、其々に成因为、臨床経過、予後が異なる。したがって、この分類は、治療方針の決定や経過観察を行う上で臨床的意義は大きく有用と考える。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Accumulation of platelets in the liver may be an important contributory factor to thrombocytopenia and liver fibrosis in chronic hepatitis C.
Kondo R, Yano H, Nakashima O, Tanikawa K, Nomura Y, Kage M. J Gastroenterol. 2012 Aug 22. (in press)

2. 学会発表

- 1) 肝硬変患者における脾摘が、免疫機能・発癌に及ぼす影響
野村 頼子、鹿毛 政義、緒方 俊郎、木下 壽文
第101回日本病理学会総会
2012.4.26-28
- 2) 肝硬変患者におかえる脾臓摘出が、免疫機能・肝線維化に及ぼす影響
野村頼子、鹿毛政義、緒方俊郎、大島孝一、木下壽文
第53回日本リンパ網内系学会総会
2012.5.17-18
- 3) 特発性門脈圧亢進症に対する脾摘の効果
平川雄介、緒方俊郎、野村頼子、奥田康司、酒井久宗、安永昌史、堀内彦之、木下壽文、白水和雄、鹿毛政義
第24回日本肝胆膵外科学会
2012.5.30-6.1

- 4) 肝内結節性病変と門脈圧亢進症 CTAP にて濃染する結節は門脈圧亢進を基盤として発生する
喜多竜一、中島 収、坂元亨宇、那須章洋、坂本梓、齋藤澄夫、西川浩樹、木村 達、大崎往夫、若狭朋子、隈部 力、吉満研吾、鹿毛政義、大部 誠

第19回日本門脈圧亢進症学会
2012.9.19-20

- 5) Influence of splenectomy on cytotoxic T cell immunity, hepatic fibrosis, and hepatocarcinogenesis of liver cirrhosis with hypersplenism. Yoriko Nomura, Masayoshi Kage, Toshiro Ogata, Kouji Okuda, Hisafumi Kinoshita, Ohshima Kouichi, Hirohisa Yano.

The Liver Meeting 2012-American Association for the Study of Liver Disease
2012.11.9-13

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

門脈圧亢進症ラット胃粘膜における adaptive cytoprotection 障害メカニズムについて

研究分担者 北野 正剛（大分大学長）

研究要旨

門脈圧亢進症の胃粘膜においては易障害性があり、そのメカニズムとして活性窒素酸化物や脂質酸化物（MDA）が関与していると言われている。そこで、門脈圧亢進症ラット胃粘膜における adaptive cytoprotection 障害と胃粘膜中の MDA や nitrotyrosine、glutathione の関与について検討を行った。Sprague-Dawley(SD) ラットを用い、門脈2段階結紮による門亢症ラットモデル(PHT 群)、Shame-operated コントロール(SO 群)を作成した。まず、2週間後の胃粘膜の MDA、nitrotyrosine を測定した。さらに術後2週間で各群を10% ethanol 投与群、蒸留水(DW) 投与群、10% ethanol + DHLHZn 投与群に分け、それぞれ3群を作成。 α リポ酸誘導体、DHLHZn は10% ethanol 投与の1時間前に前投与した。投与1時間後の胃粘膜の MDA、nitrotyrosine、glutathione を測定した。胃粘膜中の酸化ストレスは MDA、nitrotyrosine とともに PHT 群で有意に高値を示した。10% ethanol 投与後の変化は SO 群で10% ethanol 投与群、10% ethanol + DHLHZn 投与群が非投与群と比べ MDA、nitrotyrosine とともに有意に低値を示し、glutathione は有意に高値を示した。PHT 群で10% ethanol + DHLHZn 投与群が非投与群、10% ethanol 投与群と比べ MDA、nitrotyrosine とともに有意に低値を示し、glutathione は有意に高値を示した。以上の結果より門脈圧亢進症胃粘膜における adaptive cytoprotection 障害に酸化ストレスおよび内因性抗酸化物質が関与していることが示唆された。

研究協力者

川野雄一郎（大分大学第一外科）

川崎 貴秀（大分大学第一外科）

太田 正之（大分大学第一外科）

A. 研究目的

門脈圧亢進症の胃粘膜においては易障害性があり¹⁾、そのメカニズムの1つとして活性窒素酸化物や脂質過酸化物が関与していると言われている^{2, 3)}。また、当科ではこれまで、門脈圧亢進症の胃粘膜では adaptive cytoprotection が障害されており、そのメカニズムに heat shock protein や一酸化窒素(NO) が関与していることを報告してきた^{4, 5)}。adaptive cytoprotection とは低容量の刺激物を前

投与することで高容量の刺激に対する障害が軽減される自己防御反応と言われており⁶⁾、そのメカニズムには内因性抗酸化物質が関与していると報告されている⁷⁾。門脈圧亢進症の胃粘膜においてはこの自己防御反応が障害されていると言われている⁴⁾。しかし、門脈圧亢進症胃粘膜における酸化ストレスと adaptive cytoprotection 障害の関連は明らかではない。今回、我々は門脈圧亢進症ラット胃粘膜における adaptive cytoprotection 障害と、胃粘膜中の酸化ストレスの関与について検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

材 料：6週齢の Sprague-Dawley (SD) ラット。

方法：SD ラットに対して門脈 2 段階結紮術を行い sham-operated (SO) 群、portal hypertension (PHT) 群の 2 群を作成した。1) 術後 2 週間で胃粘膜の MDA と nitrotyrosine を測定。2) 術後 2 週間で各群を 10% ethanol 投与群、蒸留水 (DW) 投与群、10% ethanol + DHLHZn 投与群に分け、それぞれ 3 群を作成した。さらに抗酸化物質である α リポ酸誘導体、DHLHZn は 10% ethanol 投与の 1 時間前に前投与した。投与 1 時間後の胃粘膜の MDA、nitrotyrosine、glutathione を測定した。3) 2) の 3 時間後に 70% ethanol を投与し胃粘膜の injury index を測定した。

C. 研究結果

胃粘膜中の酸化ストレスは MDA、nitrotyrosine の値はいずれも PHT 群で SO 群と比べて有意に高値を示した (表 1)。

10% ethanol 投与後の MDA の変化では SO 群では 10% ethanol 投与群、10% ethanol + DHLHZn 投与群が非投与群と比べて有意に低値を示した (表 2)。PHT 群では 10% ethanol + DHLHZn 投与群が 10% ethanol 投与群と比べて有意に低値を示した (表 2)。10% ethanol 投与後の nitrotyrosine の変化も同様に SO 群では 10% ethanol 投与群、10% ethanol + DHLHZn 投与群が非投与群と比べて有意に低値を示した (表 2)。PHT 群では 10% ethanol + DHLHZn 投与群が 10% ethanol 投与群と比べて有意に低値を示した (表 2)。

10% ethanol 投与後の glutathione の変化は SO 群で 10% ethanol 投与群、10% ethanol + DHLHZn 投与群は非投与群と比べ有意に高値を示した (表 3)。PHT 群で 10% ethanol + DHLHZn 投与群が 10% ethanol 投与群、非投与群と比べ有意に高値を示した (表 3)。

同様に 10% ethanol 投与後の SOD activity の変化では、SO 群で 10% ethanol 投与群、10% ethanol + DHLHZn 投与群は非投与群と比べ有意に高値を示した (表 3)。PHT 群で 10% ethanol + DHLHZn 投与群が 10% ethanol 投与群、非投与群

と比べ有意に高値を示した (表 3)。10% ethanol 投与後の catalase activity の変化では、SO 群で 10% ethanol 投与群、10% ethanol + DHLHZn 投与群は非投与群と比べ有意に高値を示した (表 3)。PHT 群で 10% ethanol + DHLHZn 投与群が 10% ethanol 投与群、非投与群と比べ有意に高値を示した (表 3)。

Injury index の結果では、SO 群で 10% ethanol 投与群、10% ethanol + DHLHZn 投与群は、非投与群と比べて有意に低値を示した。PHT 群で 10% ethanol + DHLHZn 投与群は 10% ethanol 投与群、非投与群と比べ有意に低値を示した (表 4)。

表 1. 胃粘膜中の酸化ストレス

	SO群	PHT群
MDA(μ M)	0.69 \pm 0.3	4.45 \pm 2.2*
nitrotyrosine(μ M)	426.5 \pm 295.5	1503.5 \pm 194.3**

*P < 0.01, **P < 0.05

表 2. 10% ethanol 投与後の胃粘膜中の酸化ストレス変化

	DW	10% ethanol	10% ethanol+DHLHZn
SO群			
MDA(μ M)	0.65 \pm 0.2	0.18 \pm 0.1*	0.14 \pm 0.1*
nitrotyrosine(μ M)	891.2 \pm 634	286.6 \pm 74**	266.3 \pm 190**
PHT群			
MDA(μ M)	3.27 \pm 1.0##	6.91 \pm 3.2	1.71 \pm 0.7#
nitrotyrosine(μ M)	2359.2 \pm 1772##	4815.0 \pm 1046	1091.7 \pm 632#

*P < 0.01, **P < 0.05 vs DW, #P < 0.01, ##P < 0.05 vs 10% ethanol

表 3. 10% ethanol 投与後の胃粘膜中の抗酸化物質の変化

	DW	10% ethanol	10% ethanol+DHLHZn
SO群			
Glutathione(μ M)	1.18 \pm 1.0	2.87 \pm 0.4*	3.16 \pm 0.3*
SOD(units/ml)	6.45 \pm 0.01	12.9 \pm 2.7*	16.4 \pm 4.1*
Catalase(U/ml)	16.6 \pm 5.6	33.4 \pm 6.3**	36.2 \pm 12**
PHT群			
Glutathione(μ M)	1.76 \pm 0.5#	1.54 \pm 0.2#	3.35 \pm 0.1
SOD(units/ml)	6.29 \pm 0.3#	6.36 \pm 0.3#	12.9 \pm 0.5
Catalase(U/ml)	16.9 \pm 6.1#	16.8 \pm 2.8#	29.6 \pm 6.9

*P < 0.01, **P < 0.05 vs DW, #P < 0.01 vs 10% ethanol+DHLHZn

表 4. 70% ethanol 投与後の injury index

	DW	10% ethanol	10% ethanol+DHLHZn
injury index(%) SO	14.4 \pm 7.3	5.9 \pm 0.3**	5.35 \pm 3.1**
injury index(%) PHT	22.5 \pm 3.4#	24.7 \pm 4.9#	8.69 \pm 5.0

**P < 0.05 vs DW, #P < 0.01 vs 10% ethanol+DHLHZn

D. 考 察

門脈圧亢進症性胃症は門脈圧の亢進により胃粘膜中の NO が増加し²⁾、増加した NO がスーパーオキシドと反応し活性窒素酸化物や脂質過酸化物を産生すると言われている³⁾。今回の研究では PHT 群で MDA、nitrotyrosine の値が有意に高値を示し、門脈圧亢進症胃粘膜で酸化ストレスが増加していることが示された。

Adaptive cytoprotection のメカニズムとして以前はプロスタグランディンが関与していると言われていた^{7, 8)}。しかし、近年の報告では adaptive cytoprotection はプロスタグランディンが低下した時にも起こると言われている⁹⁾。また、低容量刺激物投与後のラット胃粘膜において SOD activity が増加するなどの内因性抗酸化物質が adaptive cytoprotection に関連しているとの報告もある⁷⁾。今回の研究では、低容量刺激である 10% ethanol を投与すると内因性抗酸化物質の活性化が示された。この内因性抗酸化物質の活性化が adaptive cytoprotection のメカニズムの 1 つではないかと考えられた。

門脈圧亢進症胃粘膜では内因性抗酸化物質が低下していると言われている¹⁰⁾。今回の研究では 10% ethanol を投与しても内因性抗酸化物質の活性化は認めなかった。この点が門脈圧亢進症胃粘膜で adaptive cytoprotection が障害されているメカニズムの 1 つではないかと考えられた。

酸化ストレスが増加した状態である門脈圧亢進症胃粘膜に対して抗酸化作用ももつ薬剤、レバミピド³⁾、ビタミン E¹¹⁾などが有効と報告されている。また、亜鉛を配合する薬剤も有用とされている¹²⁾。抗酸化物質である α リポ酸誘導体、DHLHZn は強力な抗酸化作用を持つことが示されている¹³⁾。今回の研究では PHT 群に抗酸化物質である α リポ酸誘導体の前投与を行うと酸化ストレスの減少、内因性抗酸化物質の活性化が得られ、門脈圧亢進症胃粘膜における adaptive cytoprotection 障害も改善されたと考えられた。

E. 結 論

門脈圧亢進症胃粘膜における adaptive cytoprotection 障害に酸化ストレスおよび内因性抗酸化物質が関与していることが示唆された。そのメカニズムとして増加した酸化ストレスが内因性抗酸化物質の活性化を障害させていることが考えられた。

文 献

- 1) Sarfeh IJ, Tarnawski A, Hajduczek A, Stachura J, Bui HX, Krause WJ. The portal hypertensive gastric mucosa: histologic, ultrastructural, and functional analysis after aspirin-induced damage. *Surgery* 1998; 104: 79-85.
- 2) Ohta M, Tanoue K, Tarwanski AS et al. Overexpressed nitric oxide synthase in portal-hypertensive stomach of rat: a key to increased susceptibility to damage? *Surgery* 1997; 122: 936-942.
- 3) Kinjo N, Kawanaka H, Akahoshi T et al. Significance of ERK nitration in portal hypertensive gastropathy and its therapeutic implications. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G1016-G1024.
- 4) Ninomiya K, Kitano S, Yoshida T, Bandoh T, Baater D, Tsuboi S. Impaired adaptive cytoprotection to ethanol-induced damage in gastric mucosa of portal hypertensive rats. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 1254-1260.
- 5) Tominaga M, Ohta M, Kai S et al. Increased heat-shock protein 90 expression contributes to impaired adaptive cytoprotection in the gastric mucosa of portal hypertension. *J Gastroentero Hepatol* 2009; 24: 1136-1141.
- 6) Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Davis JP, Field S, Hanchar AJ. Mild irritants prevent gastric necrosis through "adaptive

cytoprotection” mediated by prostaglandins.
Am J Physiol 1983; 245: G113-G121.

- 7) Ko JK, Cho CH, Lam SK. Adaptive cytoprotection through modulation of nitric oxide in ethanol-evoked gastritis. World J Gastroenterol 2004; 10: 2503-2508.
- 8) Jacobson ED. Direct and adaptive cytoprotection. Dig Dis Sci 1986; 31: 28-31.
- 9) Hawkey CJ, Kemp RT, Walt RP, Bhasker NK, Davies J, Filipowicz B. Evidence that adaptive cytoprotection in rats is not mediated by prostaglandins. Gastroenterology 1988; 94: 948-954.
- 10) Kaur S, Kaur U, Tandon C et al. Gastropathy and defence mechanism in common bile duct ligated portal hypertensive rats. Mol Cell Biochem 2000; 203: 79-85.
- 11) Kawanaka H, Tomikawa M, Jones MK et al. Defective mitogen-activated protein kinase (ERK2) signaling in gastric mucosa of portal hypertensive rats: potential therapeutic implications. Hepatology 2001; 34: 990-999.
- 12) Arda-Pirincci P, Bolkent S, Yanardag R. The role of zinc sulfate and metallothionein in protection against ethanol-induced gastric damage in rats. Dig Dis Sci 2006; 51: 2353-2360.
- 13) Masuda T, Iwashita Y, Hagiwara S et al. Dihydrolipoyl histidinate zinc complex, a new antioxidant, attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. J Gastroenterol Hepatol 2011; 26: 1652-1658.

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

門脈圧亢進症と免疫異常－特発性門脈圧亢進症を中心に－

研究分担者 馬場 俊之（昭和大学医学部消化器内科学）

研究要旨

IPH 患者の末梢血リンパ球では CD4 +、CD8 + 細胞が減少し、それに伴い活性化リンパ球も減少していたが、リンパ球抑制性マーカー、リンパ球サブセットの解析では、明らかな免疫学的な特徴は認められなかった。

A. 研究目的

特発性門脈圧亢進症（IPH）では自己免疫現象（自己抗体陽性：40%、高ガンマグロブリン血症：25%、自己免疫疾患合併：10%）が報告されている。IPH における免疫状態を明らかにする目的で、末梢血リンパ球について再検討を行った。

B. 研究方法

【対象】

健常者（control）：16例。IPH 患者（IPH）：5例。

【検討項目】

- 1) リンパ球活性化マーカー：CD26.
- 2) リンパ球抑制性マーカー：CD95 (Fas/Apo-1), PD-1.
- 3) リンパ球サブセット：IFN- γ , IL-4, IL-17産生細胞.
- 4) 制御性 T 細胞：FoxP3陽性細胞.

【方法】

FACS：CD4, CD8, CD26, CD95. (Fas/Apo-1), PD-1, FoxP3.

ELISPOT：IFN- γ , IL-4, IL-17.

【統計解析】

Mann-Whitney U tests.

(倫理面への配慮)

説明文書により十分な説明を行い、納得されたことを確認し、同意を得た。同意書 2 通に自著で署名をいただき、一通は本人に渡し、一通は診療録で管理する。

C. 研究結果

1) リンパ球活性化マーカー (%)

CD4+細胞：control=47.0, IPH=35.0

($p=0.0064$).

CD8+細胞：control=28.2, IPH=22.7

($p=0.0390$).

CD4+CD26+細胞：control=29.6, IPH=21.3

($p=0.0429$).

CD8+CD26+細胞：control=10.6, IPH=7.3

($P=0.0257$).

CD26+/CD4+細胞：control=0.6, IPH=1.7

($p=0.2784$).

CD26+/CD8+細胞：control=0.4, IPH=0.3

($P=0.1405$).

2) リンパ球抑制性マーカー (%)

CD4+Fas+細胞：control=14.8, IPH=14.0

($p=0.8688$).

CD8+Fas+細胞：control=6.1, IPH=10.5

(p=0.1604).

CD4+PD-1+細胞：control=0.6, IPH=1.5

(p=0.5394).

CD8+PD-1+細胞：control=0.5, IPH=1.0

(p=0.6938).

3) リンパ球サブセット (spots/well).

IFN- γ 産生細胞 (Th1) : control=229.5,

なし

IPH=260.0 (p=0.3637).

IL-4産生細胞 (Th2) : control=34.5, IPH=84.0

(p=0.0828).

IFN- γ /IL-4 ratio : control=6.2, IPH=3.7

1. 論文発表

(p=0.2935).

なし

4) 制御性 T 細胞 : FoxP3 陽性細胞 (%)

IL-17産生細胞 (Th17) : control=43, IPH=33

(p=0.3988).

FoxP3+細胞 : control=1.9, IPH=1.9

(p=0.9652).

2. 学会発表

なし

D. 考 察

健常者と IPH 患者について末梢血リンパ球の統計学的解析を行った。IPH では、CD4+、CD8+細胞が減少し、それに伴い活性化リンパ球が減少していた。リンパ球抑制性マーカー、リンパ球サブセットの解析では、明らかな免疫学的な特徴は認められなかった。これまで IPH 患者の肝組織、脾組織における制御性 T 細胞の頻度は、各種肝疾患、control よりも優位に低いことを報告した。末梢血にける活性化リンパ球の減少と肝組織、脾組織における制御性 T 細胞の減少は矛盾した結果とも考えられるが、何らかの免疫異常が存在すると予想される。これらを明らかにするためには、末梢血、肝組織、脾組織のリンパ球の包括的な解析が必要である。

E. 結 論

今回の末梢血リンパ球の解析では IPH における免疫学的な特徴は認められなかった。

F. 健康危険情報

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

IPH 患者における DNA チップを用いた網羅的遺伝子解析 ー クラスタ解析、ネットワーク解析による検討ー

研究分担者 塩見 進（大阪市立大学大学院医学研究科核医学教授）

研究要旨

IPH 患者および健常者の血液検体に対し、DNA チップを用いた網羅的遺伝子解析を行い、IPH 特異遺伝子を検討した。RNA クオリティチェックでは、今回対象とした検体の RNA はすべて解析可能な品質であった。クラスタ解析では IPH に特異的な遺伝子群の発現傾向は明らかでなかったが、ネットワーク解析では ADA、T-cell 系や B-cell 系等に関連する遺伝子群の発現が低下しており、免疫系に関わる pathway が多く関与していた。

研究協力者

小谷 晃平（大阪市立大学大学院医学研究科核医学）
河邊 讓治（大阪市立大学大学院医学研究科核医学）
森川 浩安（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵内科）
田守 昭博（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵内科）
長尾 吉泰（九州大学大学院医学研究院先端医療医学）
赤星朋比古（九州大学大学院医学研究院先端医療医学）
橋爪 誠（九州大学大学院医学研究院先端医療医学）

A. 研究目的

我々は特発性門脈圧亢進症（IPH）に特異的に発現する遺伝子の一つとして、Connective tissue growth factor（CTGF）を同定し、IPH 肝組織中に発現することを報告してきた（1）。しかしモデル動物作製のため組み換えアデノウイルスを用い CTGF を高発現させたラットにおいて、肝組織の変化は認めなかった（2）。今回、IPH に関連する遺伝子群を検索するため、IPH 患者の血液を用いて網羅的遺伝子解析を行った。さらにその遺伝子群においてクラスタ解析およびネットワーク解析による検討を行った。

B. 研究方法

IPH 症例の血液 4 検体と健常者血液 4 検体を用いた。検体をニッポンジーン社のマニュアルに従って total RNA を調製した。分光光度計（SmartSpec 3000, BioRad 社）を用いて RNA 濃度を測定し、Agilent 2100 Bioanalyzer（Agilent Technology 社）により RNA クオリティチェックを行った。この RNA を用い標準的 1 サイクル法により cDNA を合成し、ビオチン化 cRNA を合成した。これを Gene Chip Array（Human Gene ST 1.0 Array）へハイブリダイゼーションし、Gene Chip 3000 Scanner により Array のスキャンを行い、画像データを所得した。Gene Chip システムに標準装備されているデータ解析システム“GCOS”を用いて、取得した各サンプルの Array 画像データを数値抽出可能な形式のファイルへ変換した。取得した Gene Chip 数値データから、特定の生物学的現象に関連する遺伝子発現情報を抽出するために“Gene Ontology Database”（GO）を用いた。さらに抽出した遺伝子群においてクラスタ解析およびネットワーク解析による検討を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は大阪市立大学倫理委員会および九州大学

倫理委員会の承認を受け、同意を得た検体を使用した。

C. 研究結果

1. RNA のサンプルチェック：

RNA のサンプルチェックのため、各検体の RNA 量を測定し、Bioanalyzer にて RIN (RNA Integrity Number) を算出した。IPH の RIN は 7.6、6.5、6.4、2.3 であり、健常者の RIN は 7.5、7.3、7.2、3.8 であった。そのため RIN6.0 以上を示す IPH 3 検体および健常者 3 検体を遺伝子解析に使用した。

2. 網羅的遺伝子解析：

クラスタ解析の解析結果を図 1 に示す。健常者の

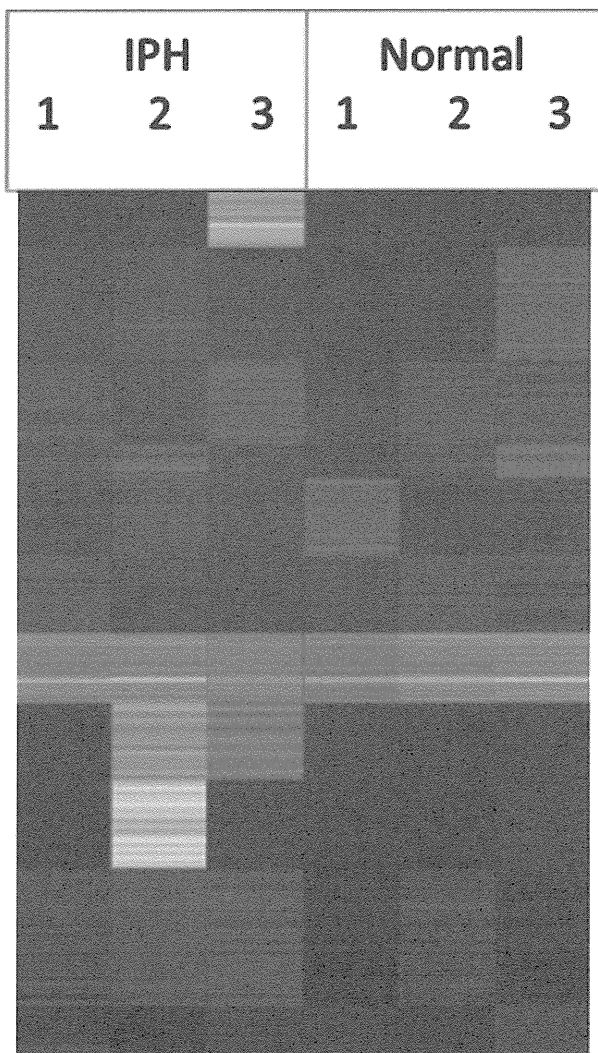


図 1. クラスタ解析結果

3 検体は比較的遺伝子発現の増減傾向が揃っていた。一方、IPH の 3 検体では、いずれも健常者とは遺伝子発現の傾向が異なっており、また 3 検体の間での遺伝子発現の増減傾向は揃っていなかった。

ネットワーク解析 (Ingenuity Systems 社の i-Report システム) の結果を図 2 に示す。変動遺伝子を t 検定、Fold Change で絞り込みを実施し、Ingenuity ontology と Canonical pathway による生物学的解釈を行った。Pathway 分類において、変動遺伝子の関与率ランキングに従って配列し、p 値の低い順にリストアップした。ランキング上位の順から抽出したところ、免疫系に関する pathway が多く関与していた。主に ADA、T-cell 系や B-cell 系等の遺伝子群の発現が低下していた。

Pathway No.	Pathways	DEGs	pValue	Genes
1	Primary Immunodeficiency Signaling	4	0.00012008	ADA, CD79A, IGHD, IGLL1/IGLL5
2	Altered T Cell and B Cell Signaling in Rheumatoid Arthritis	4	0.0007729	CD28, SLAMF1, TGFB1 (includes EG:21803), CD79A
3	T Helper Cell Differentiation	3	0.00444005	CD28, TGFB1 (includes EG:21803), TNFRSF11B
4	Cyclins and Cell Cycle Regulation	3	0.00625175	E2F5
5	B Cell Development	2	0.010285	CD79A, IGHD
6	Leukocyte Extravasation Signaling	4	0.01318338	CXCR4, CD44 (includes EG:100330801), MLLT4, MMP12
7	Atherosclerosis Signaling	3	0.01914609	TGFB1 (includes EG:21803), CXCR4, PLA2G10
8	Arachidonic Acid Metabolism	3	0.02178945	GPX3, PLA2G10, CYP4F3
9	Colorectal Cancer Metastasis Signaling	4	0.02754734	RHOQ, TGFB1 (includes EG:21803), PTGER2, MMP12
10	Aryl Hydrocarbon Receptor Signaling	3	0.02820145	TGFB1 (includes EG:21803), NFIA, GSTA5

図 2. ネットワーク解析結果

D. 考 察

我々は以前より特発性門脈圧亢進症 (IPH) に特異的に発現する遺伝子の一つとして、Connective tissue growth factor (CTGF) に注目し、IPH 患者の中に CTGF が異常高値を示す群が存在することを認め、mRNA レベルでの発現を IPH 肝組織中に確認した (1)。さらに動物モデル作成のため、組み換えアデノウイルスにより CTGF を一過性に高発現させたラットにおいて線維化関連遺伝子の発現を認めたが、肝組織に変化は認めなかった (2)。そ

のため IPH に特異的に発現する新たな遺伝子を探索する目的で、DNA チップを用いた網羅的遺伝子解析を行った。

今回解析を行った IPH 3 検体と健常者 3 検体はすべて十分な RNA 量があり、RIN に関しても 6.0 以上であり、解析には問題のない RNA の品質であった。

クラスタ解析では健常者の 3 検体は遺伝子発現の増減傾向が揃っていたが、IPH の 3 検体ではいずれも健常者とは遺伝子発現の増減傾向が揃っておらず、IPH の 3 検体間での増減傾向も揃っていなかった。IPH は除外診断による症候群の要素があるため、クラスタ解析の結果は妥当であるのかもしれないが、今回の検討では有意な遺伝子群の発現傾向は見いだせなかった。

一方ネットワーク解析では、pathway 分類において免疫系に関わる pathway が多く認められ、ADA、T-cell 系や B-cell 系等に関連する遺伝子の発現が低下していた。IPH では以前より免疫異常が関与している可能性が報告されており (3)、ネットワーク解析の結果からも免疫系の遺伝子の機能低下が関与していることが推測された。今後は IPH に特異的な pathway を構築していく必要があり、そのためにネットワーク解析にて今回認められたものと類似の pathway を有する疾患を検索し、関連する遺伝子をさらに追求して行く必要がある。

E. 結 論

IPH 患者および健常者の血液検体に対し、DNA チップを用いた網羅的遺伝子解析を行った。クラスタ解析では IPH で有意な遺伝子群の発現傾向は見いだせなかったが、ネットワーク解析では免疫系に関わる pathway が多く関与しており、ADA、T-cell 系や B-cell 系等に関連する遺伝子の発現が低下していた。免疫異常が IPH の病態に関与していることが推測された。

F. 文 献

- 1) Morikawa H, Tamori A, Nishiguchi S, Enomoto M, Habu D, Kawada N, Shiomi S. Expression of connective tissue growth factor in the human liver with idiopathic portal hyper- tension. Mol Med. 2007; 13: 240-245.
- 2) 塩見 進、森川浩安、西口修平、他：特発性門脈圧亢進症の遺伝子に関する研究。厚生省特定疾患門脈血行異常症調査研究班平成15年度研究報告書 2004: 5-8.
- 3) 塩見 進、小谷晃平、河邊讓治、他：門脈血行異常症に関する調査研究。厚生労働科学研究補助金難治性疾患克服研究事業平成23年度研究報告書 2012: 19-21.

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

門脈圧亢進症における ADAMTS13 の動態：食道静脈瘤との関連

研究分担者 福井 博（奈良県立医科大学消化器・内分泌代謝内科教授）

研究要旨

食道・胃静脈瘤合併肝硬変の ADAMTS13 活性は低下傾向、VWF 抗原は増加傾向、VWF/ADAMTS13 比は高値を示し、門脈圧亢進状態では血小板過凝集状態にあることが推測された。硬化療法（EIS）後早期に VWF が低下する例の EIS 前の VWF 抗原は他群に比し増加しており、これらは Child-Pugh スコアが高値で血小板数が低値のいわゆる進行肝硬変症例であった。EIS 後早期に VWF が増加する群の中に ADAMTS13 活性が上昇する例があり、これらは肝予備能が保持されていた。EIS により血小板過凝集が是正される症例のあることが示唆された。

研究協力者

高谷 章（奈良県立医科大学消化器・内分泌代謝内科）
植村 正人（奈良県立医科大学消化器・内分泌代謝内科）
田原（松山）友美（奈良県立医科大学消化器・内分泌代謝内科）
石川 昌利（奈良県立医科大学消化器・内分泌代謝内科）
森岡 千恵（奈良県立医科大学消化器・内分泌代謝内科）

multimer が増加して血小板血栓が形成されやすくなり、諸臓器の微小循環障害が惹起される。われわれは肝硬変の ADAMTS13 とその関連因子について詳細な検討を行ってきたが、今回は肝硬変における食道静脈瘤の程度ならびに EIS 後の治療経過と血漿 ADAMTS13 活性・VWF 抗原の関係について検討した。

A. 研究目的

食道静脈瘤は門脈圧亢進状態を如実に反映する肝硬変の代表的な合併症である。わが国では食道静脈瘤の破裂出血への対処と出血予防の目的で静脈瘤硬化療法（EIS）が普及しているが、血管内に硬化剤を注入する治療が患者の血栓止血機能に少なからぬ影響を及ぼすことは十分に予想され、事実、EIS は肝硬変に頻発する門脈血栓症の原因の 1 つとされている。一方、本来肝硬変では凝固因子、血小板およびそれらの阻害因子がともに著減しており、血栓や出血が生じやすい不安定な状態にあることも指摘されている¹⁾。ADAMTS13 は血管内皮細胞で産生される超高分子量 VWF multimer を分解するが、本酵素活性が低下すると VWF

B. 研究方法

対象は肝硬変患者 96 例（男性 60 例、女性 36 例、年齢 66 歳）で、食道・胃静脈瘤の状態は静脈瘤なし 14 例、RC 陰性静脈瘤合併 25 例、RC 陽性静脈瘤合併 57 例である。血漿 ADAMTS13 活性は Kato らの ELISA、Furlan ら VWF_{FM} 法の変法を用いて測定し、血漿 VWF 抗原は ELISA により測定した。さらに 23 例については EIS 前後（施行前、施行後早期、施行 3 ヶ月後）でこれらを測定し、これらの動態と Child-Pugh スコアなどの背景因子との関係について検討した。

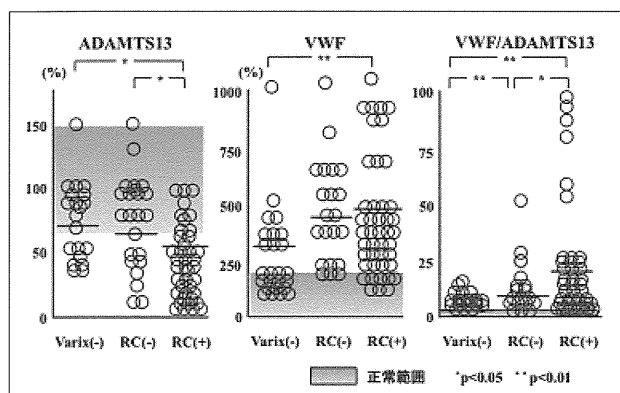
C. 研究結果

1. 肝硬変患者の ADAMTS13 活性、VWF 抗原、VWF 抗原 / ADAMTS13 活性比

健常人の ADAMTS13 活性は $100 \pm 23\%$ であり、慢性肝炎では $87 \pm 27\%$ 、Child A 肝硬変では $79 \pm 25\%$ 、Child B 肝硬変では $63 \pm 36\%$ 、Child C 肝硬変では $30 \pm 22\%$ と慢性肝疾患群では病態の進行とともに低下した。健常人の VWF 抗原は $100 \pm 50\%$ であり、慢性肝炎では $245 \pm 135\%$ 、Child A 肝硬変では $320 \pm 174\%$ 、Child B 肝硬変では $436 \pm 266\%$ 、Child C 肝硬変では $486 \pm 254\%$ と慢性肝疾患群では病態の進行とともに増加傾向を示した。VWF 抗原 / ADAMTS13 活性比は健常人では 1.0 ± 0.5 、慢性肝炎では 2.9 ± 1.8 、Child A 肝硬変では 4.3 ± 2.3 、Child B 肝硬変では $13.3 \pm 19.7\%$ 、Child C 肝硬変では $43.2 \pm 73\%$ と慢性肝疾患では病態の進行とともに著しく増加し、各群間で有意差を認めた。

2. 静脈瘤の程度と ADAMTS13 活性、VWF 抗原、VWF 抗原 / ADAMTS13 活性比 (図)

静脈瘤のない肝硬変に比べ、RC 陽性静脈瘤合併肝硬変では ADAMTS13 活性が低く、VWF 抗原は高く、VWF 抗原 / ADAMTS13 活性比は静脈瘤のない肝硬変、RC サイン陰性静脈瘤合併肝硬変、RC サイン陽性静脈瘤合併肝硬変の順に高値を示し、各群間に有意差が認められた。Child-Pugh 分類別に見ると、Child B、C 群で静脈瘤の程度に応じて VWF 抗原、VWF 抗原 / ADAMTS13 活性比が高値をとった。



(図) 静脈瘤の程度と ADAMTS13 活性、VWF 抗原

3. EIS 前後の ADAMTS13 活性、VWF 抗原、VWF 抗原 / ADAMTS13 活性比の推移

EIS 施行後早期の ADAMTS13 活性、VWF 抗原、VWF 抗原 / ADAMTS13 活性比の推移は一見症例によりまちまちであった。しかし、VWF 抗原の早期変化については上昇例 6 例、不変例 11 例、低下例 6 例と分かれたので、これら 3 群で背景因子を比較した。VWF 抗原上昇群、不変群、低下群の EIS 前 VWF 抗原はそれぞれ $146 \pm 83\%$ 、 $208 \pm 113\%$ 、 $331 \pm 127\%$ と、EIS 後早期の VWF 抗原低下群は治療前 VWF が最も高値であった。また、EIS 後早期の VWF 抗原低下群は EIS 前の Child-Pugh スコアが有意に高値で、血小板数が有意に低値であった。さらに VWF 抗原上昇群、不変群、低下群の EIS 前 ADAMTS13 はそれぞれ $70 \pm 23\%$ 、 $79 \pm 19\%$ 、 $105 \pm 44\%$ であり、EIS 後早期の VWF 抗原低下群は治療前 ADAMTS13 も高値の傾向にあった。一方、EIS 後早期の VWF 増加群は肝予備能が保持されていたが、この中には ADAMTS13 活性が上昇する例が存在し、この ADAMTS13 活性の上昇傾向は EIS 3 か月後の VWF 上昇群にも観察された。

D. 考察

進行した肝硬変では血小板数が著減して出血傾向を助長していると考えられるが、一方で VWF の著増のために傷害された血管内皮への血小板粘着能が亢進し、これは出血に対する代償機構をなすとも考えられる。血漿 VWF 抗原 / ADAMTS13 活性比の低下は血小板数の少ない条件下では血小板機能を維持する意味では有利に働くとも言える²⁾。われわれはこれまで肝硬変や重症アルコール性肝炎において ADAMTS13 活性と VWF のバランスが崩れ、超高分子量 VWF multimer の出現のために血小板過凝集状態が生じ、組織の微小循環阻害による多臓器障害を引き起こす可能性を指摘してきた^{3,4)}が、今回、RC サイン陽性の静脈瘤症例で VWF 抗原 / ADAMTS13 活性比が最も高値であったのは血小板過凝集という病的状態を表しているのか、出血傾向に対する代償機転としての合目的性があるのか、結

論を下すことはできない。

今回は食道・胃静脈瘤出血前後のVWF/ADAMTS13動態、さらには静脈瘤出血後に多臓器不全を来した症例のVWF/ADAMTS13動態を追えているわけではないため、ADAMTS13活性とVWFのバランスの崩れが門脈圧亢進症の病態生理にどのような影響を及ぼしているかについて論じることはできない。

一方、破裂の危険を孕む静脈瘤に対してEISを施行することにより進行した肝硬変患者の病態が改善することがあるが、今回EIS後にVWF抗原が低下した群では他群に比してEIS前のVWF抗原は上昇しており、Child-Pughスコアが高値、血小板数が低値の傾向にあり、こうした進行した肝硬変例ではEISにより血小板過凝集が是正される可能性がある。

一方、EIS後早期のVWF増加群の中にADAMTS13活性が上昇する例が存在し、これらは肝予備能が保持されており、EIS後血小板過凝集が是正される可能性が示唆された。同様の傾向はEIS3か月後のVWF上昇群にも観察され、EIS後に長期間に亘り血小板過凝集状態が是正されることが推察された。ともあれ、食道・胃静脈瘤の病態、治療に関してVWF/ADAMTS13動態を検討した試みは他になく、この点について他の解釈を紹介したり、文献的考察を加えることは不可能である。

われわれは以前にADAMTS13が肝星細胞で産生されることを明らかにした⁵⁾が、ADAMTS13の産生・分泌機序の詳細は未だ未解明である。門脈圧亢進症においてもADAMTS13が病態形成にかかわる可能性があることは今回の研究からも示唆されるところであり、今後、他の門脈血行異常症や実験モデルで詳細な検討を重ねて行きたい。

E. 結 論

ADAMTS13の酵素/基質の不均衡は向血栓性を示し、食道・胃静脈瘤の病態や治療に関連している可能性がある。

F. 文 献

1. Violi F, Basili S, Raparelli V, Chowdary P, Gatt A, Burroughs AK. Patients with liver cirrhosis suffer from primary haemostatic defects? Fact or fiction? *J Hepatol* 2011;55:1415-27.
2. Tripodi A, Mannucci PM. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med* 2011;365:147-56.
3. Uemura M, Matsuyama T, Ishikawa M, Fujimoto M, Kojima H, Sakurai S, Ishii S, Toyohara M, Yamazaki M, Yoshiji H, Yamao J, Matsumoto M, Ishizashi H, Fujimura Y, Fukui H. Decreased activity of plasma ADAMTS13 may contribute to the development of liver disturbance and multiorgan failure in patients with alcoholic hepatitis. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:264S-71S.
4. Uemura M, Fujimura Y, Matsumoto M, Ishizashi H, Kato S, Matsuyama T, Isonishi A, Ishikawa M, Yagita M, Morioka C, Yoshiji H, Tsujimoto T, Kurumatani N, Fukui H. Comprehensive analysis of ADAMTS13 in patients with liver cirrhosis. *Thromb Haemost* 2008;99:1019-29.
5. Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, Fujimoto M, Matsuyama T, Ishikawa M, Iwamoto TA, Mori T, Wanaka A, Fukui H, Fujimura Y. Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood* 2005;106:922-4.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takaya H, Uemura M, Fujimura Y, Matsumoto M, Matsuyama T, Kato S, Morioka C, Ishizashi H, Hori Y, Fujimoto

M, Tsujimoto T, Kawaratani H, Toyohara M, Kurumatani N, Fukui H. ADAMTS13 activity may predict the cumulative survival of patients with liver cirrhosis in comparison with the Child-Turcotte-Pugh score and the Model for End-Stage Liver Disease score. Hepatol Res 2012;42:459-72.

2. 学会発表

- 1) 高谷広章、植村正人、森岡千恵、松本雅則、松山友美、石川昌利、藤本正男、辻本達寛、瓦谷英人、石指宏通、早川正樹、藤村吉博、福井 博
門脈血栓合併肝硬変における ADAMTS13 関連マーカーの動態 第47回日本肝臓学会総会、東京、2011.6.2

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

検体保存センターの登録の現状について

研究分担者 橋爪 誠（九州大学大学院医学研究院先端医療医学教授）

研究要旨

はじめに：門脈血行異常症研究班の対象とする IPH,BCS,EHO の病因は未だ不明である。3 疾患は、全国的にみても症例数が少なく、系統的な疾患の研究解析が困難であるのが現状である。対象と方法：現在の厚生労働省の倫理指針に沿った新しい検体保存センターの再編として、1. 倫理審査委員会の設置（検体提供施設、検体保存施設、検体解析施設） 2. 匿名化のシステムが確立 3. 同意書取得を網羅したシステムづくりを行ってきた。検体は臨床データ（個人調査表）と匿名連結可能なようにし、各研究者が共有できるものとした。結果：平成18年に九州大学にてヒトゲノムに関する倫理委員会の承認の後、平成24年12月現在までにヒトゲノム倫理審査委員会の承認が得られている施設は11施設と大幅に増え（昨年6施設）、登録状況は現在62症例（内 IPH: 8例、EHO: 1例、BCS:26例）であった。考察：症例登録および解析においてもそれぞれの施設が倫理委員会の承認を必要となったことが検体保存センターの登録症例数の減少の原因であったが、各施設での倫理審査委員会の承認施設が増えることにより、昨年より症例は大きく増加した。これからも登録症例の増加が見込まれるものと考えられる。

研究協力者

赤星朋比古（九州大学大学院医学研究院先端医療医学）

富川 盛雅（九州大学病院先端医工学診療部）

A. 研究目的

近年のヒトゲノムおよび遺伝子解析研究における倫理指針の改訂にともない、当班会議においても、現在の社会情勢に沿った検体保存センターのシステム作りが必要となった。平成18年3月、厚生労働省の倫理指針に沿った新しい検体保存センターが、九州大学大学院医学研究院倫理委員会およびヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会により承認されたが、検体を解析する施設はもとより登録する施設にも施設倫理委員会の承認がひつようとなった。各施設での倫理委員会の承認状況と登録症例の現状について検討した。

B. 研究方法

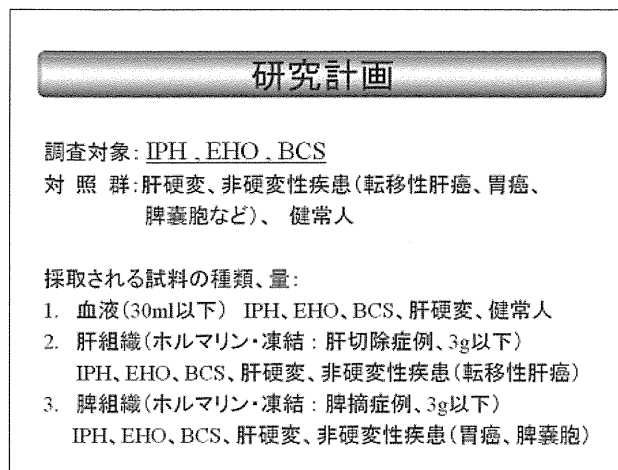
現在の厚生労働省の倫理指針に沿った新しい検体保存センターの再編として、

1. 倫理審査委員会の設置（検体提供施設、検体保存施設、検体解析施設）
2. 匿名化のシステムが確立
3. 同意書取得を網羅したシステムづくりを行った。

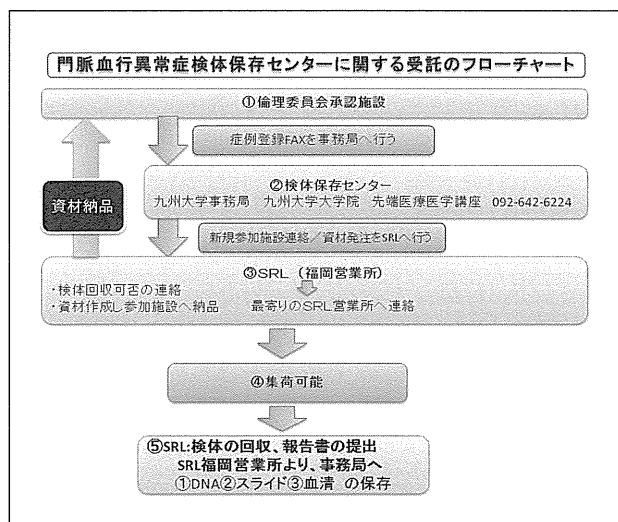
これにより検体提供施設は分担研究者施設のみに限定した。また門脈血行異常症の検体だけでなく、健常人、肝硬変、非肝硬変肝疾患患者の対照群についても検体保存することとした。検体は臨床データ（個人調査表）と匿名連結可能なようにし、各研究者が共有できるものとした。具体的には調査対象：IPH, EHO, BCS、対照群：肝硬変、非硬変性疾患（転移性肝癌、胃癌、脾嚢胞など）、健常人とした。採取される試料の種類と量については、血液

(30ml以下)、肝組織(ホルマリン・凍結：肝切除症例、3g以下)脾組織(ホルマリン・凍結：脾摘症例、3g以下)とした。(図1)

検体保存センターの流れとしては図2の如く倫理委員会承認施設にて、患者からの同意を得、検体を連結可能匿名化した後にエスアール社にて検体の回収とDNA抽出を行い九州大学にある検体保存センターにて登録保存する。



(図1)



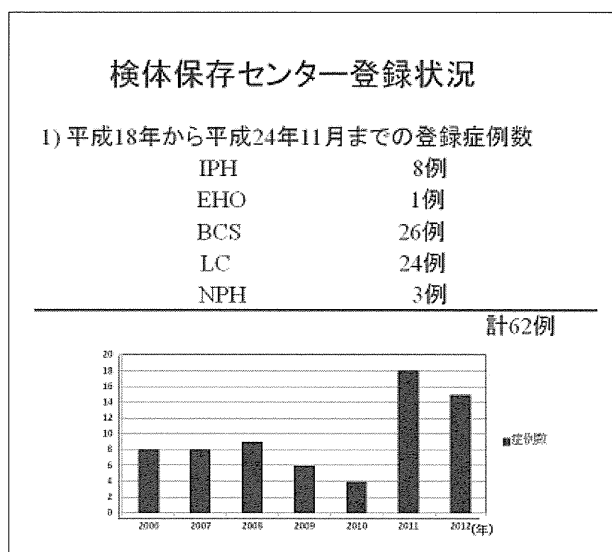
(図2)

C. 研究結果

平成24年12月現在までにヒトゲノム倫理審査委員会の承認が得られている施設は九州大学大、長崎大学大、大阪市立大学、大分大学、琉球大学、昭和

大学、久留米大学医学部、東京医科大学、名古屋大学、山口大学の11施設となった。昨年度までは6施設であったが、本研究会の積極的なはたらきかけで可能となったものを考える。現在の登録状況は62症例で、IPHが8例、EHOが1例、BCSが26例であった。本年度は特に、長崎大学からの症例登録の協力により、門脈血行異常症と比較するための肝硬変症例が24例となった。(図3)

現在、登録症例においては、久留米大学と琉球大学の共同研究によるBCSにおける酸化ストレスの研究、大阪市立大学による九州大学におけるIPH症例の遺伝子の網羅的解析というように、当研究班ならではの大学の垣根のない共同研究の実施が実現してきている。



(図3)

検体保存センターの活用状況

- Budd-Chiari 症候群における肝臓の酸化ストレスに関する病理学的検討(パラフィン切片)
- 門脈血行異常症におけるプロテインC遺伝子変異解析(cDNA)
- IPH患者におけるDNAチップを用いた網羅的遺伝子解析(脾臓抽出RNA)
- IPHにおける抗血管内皮細胞抗体の出現と病態形成への関与(血清)