

図4. 糞口感染症例の特徴（2010～12年：53例）

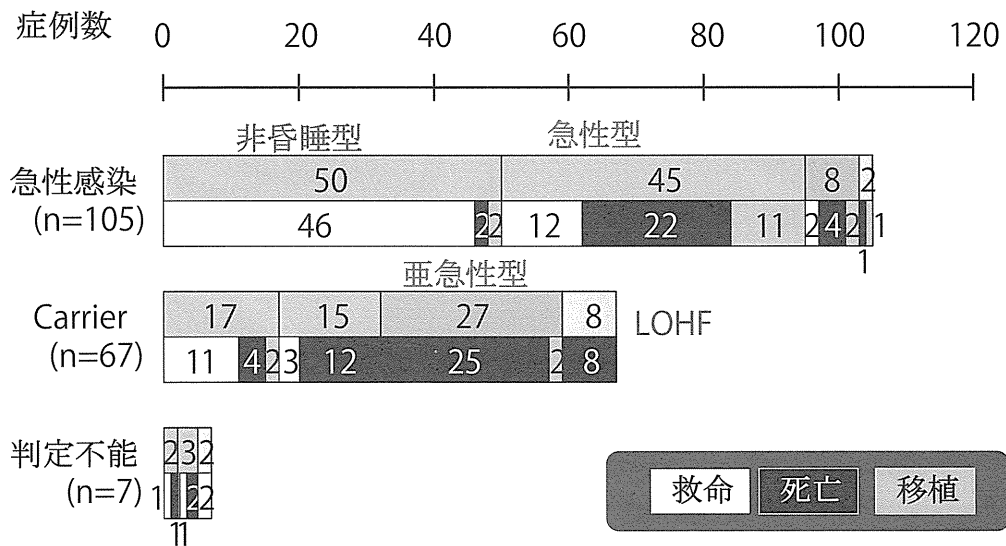


図5. 急性肝不全，LOHFにおけるHBV感染（2010～12年：179例）

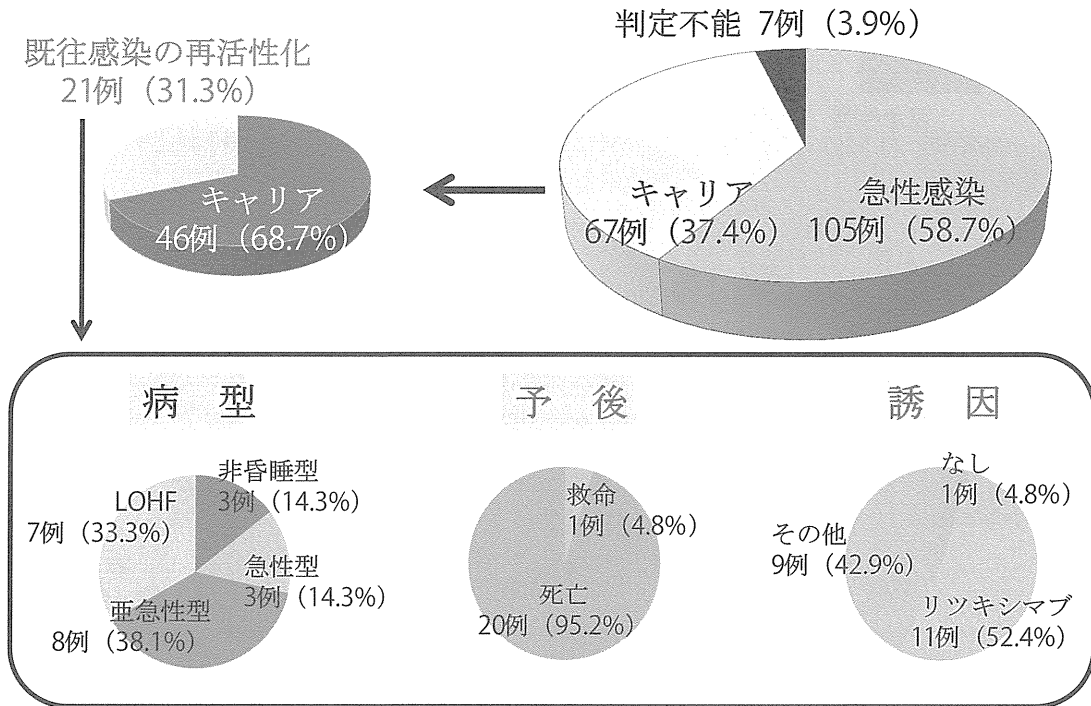


図6. B型症例の発症形式 (2010~12年: 179例)

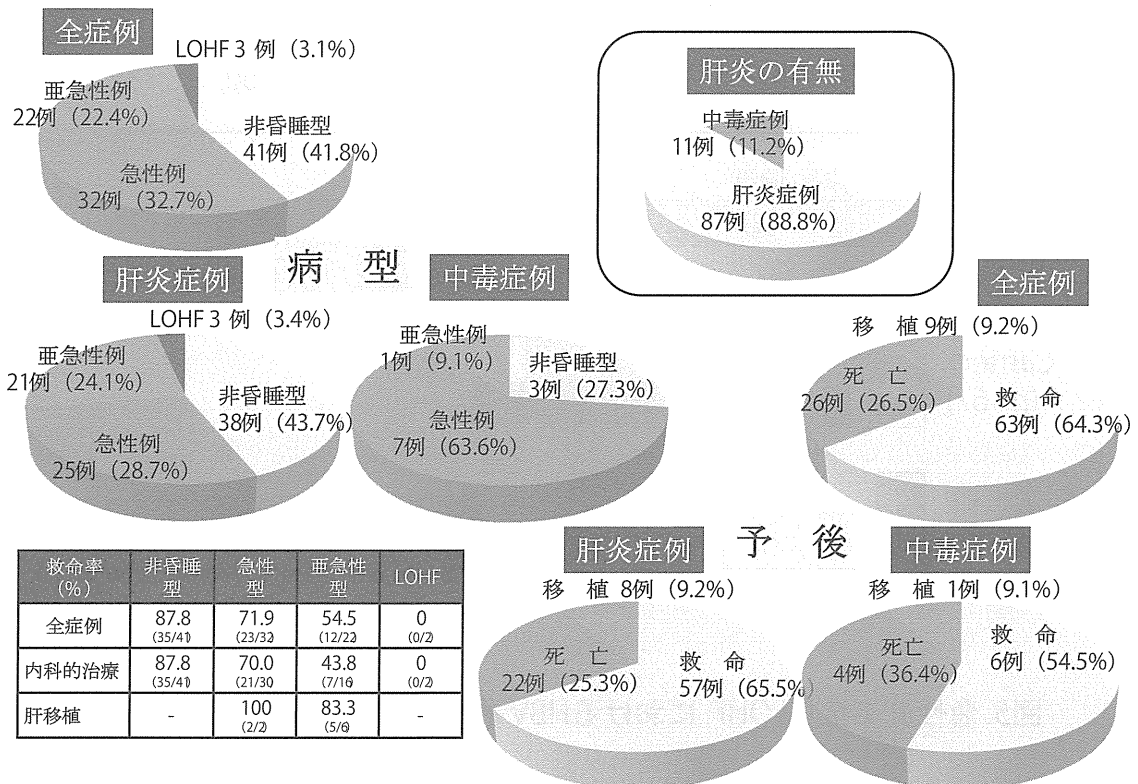
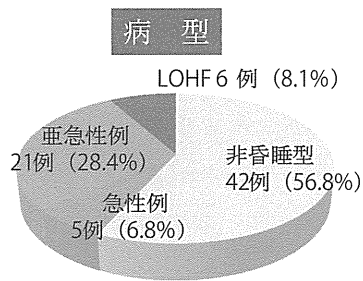
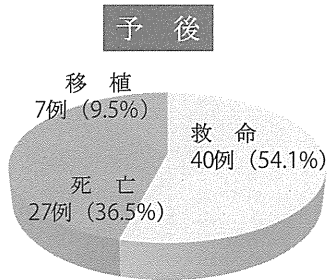


図7. 薬物性症例の病態 (2010~12年: 98例)

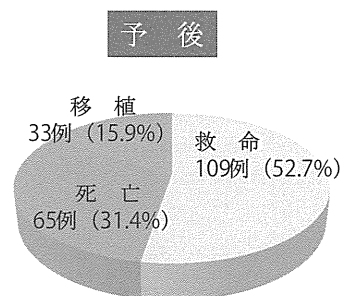
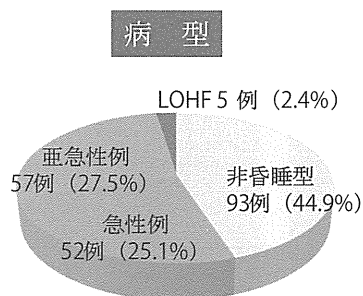


抗核抗体力価 (FA法)	血清IgG濃度 (mg/dL)				合 計
	1,870未満	1,870~2,000	2,000以上	評価不能	
20倍以下	0	0	2	0	2
40-80倍	17	1	13	0	31
160倍以上	2	5	29	1	37
評価不能	1	0	1	2	4
合 計	20	6	45	3	74



救命率 (%)	非昏睡型	急性型	亜急性型	LOHF
全症例	85.7 (36/42)	40.0 (2/5)	42.9 (9/21)	0 (0/6)
内科的治療	85.0 (34/40)	25.0 (1/4)	29.4 (5/17)	0 (0/6)
肝移植	100 (2/2)	100 (1/1)	100 (4/4)	-

図8. 自己免疫性症例の病態 (2010~12年 : 74例)



救命率 (%)	非昏睡型	急性型	亜急性型	LOHF
全症例	89.2 (83/93)	50.0 (26/52)	36.8 (21/57)	40.0 (2/5)
内科的治療	89.1 (82/92)	42.5 (17/40)	25.0 (10/40)	0 (0/2)
肝移植	100 (1/1)	75.0 (9/12)	64.7 (11/17)	66.7 (2/3)

図9. 成因不明例の病態 (2010~12年 : 207例)

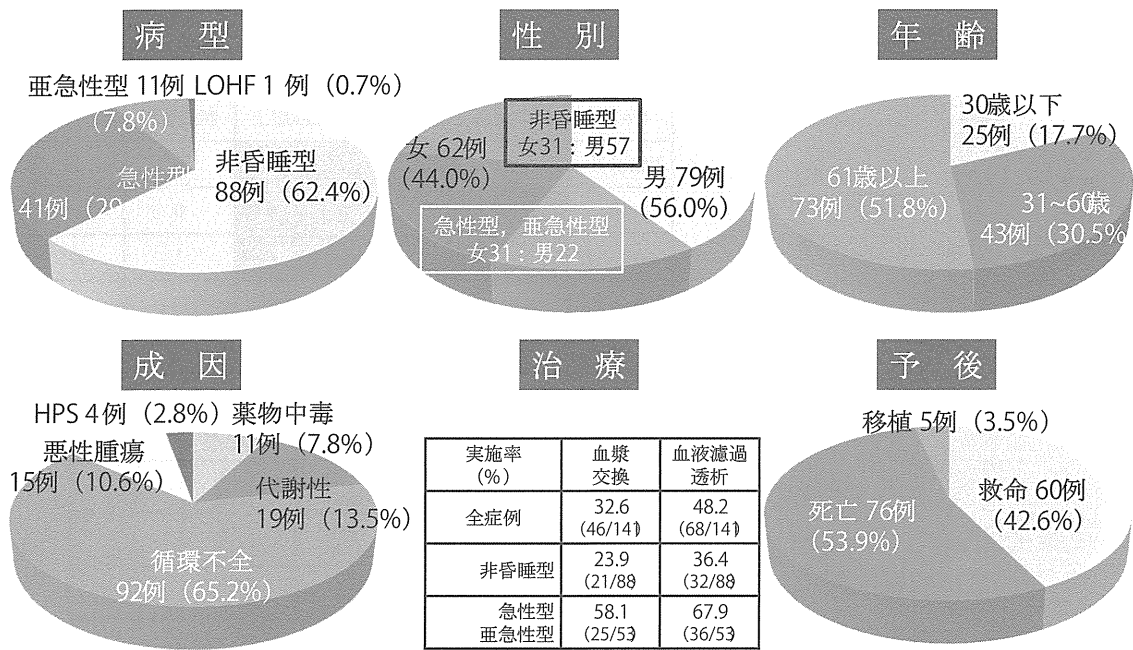


図10. 肝炎以外の症例の特徴 (2010~12年: 141例)

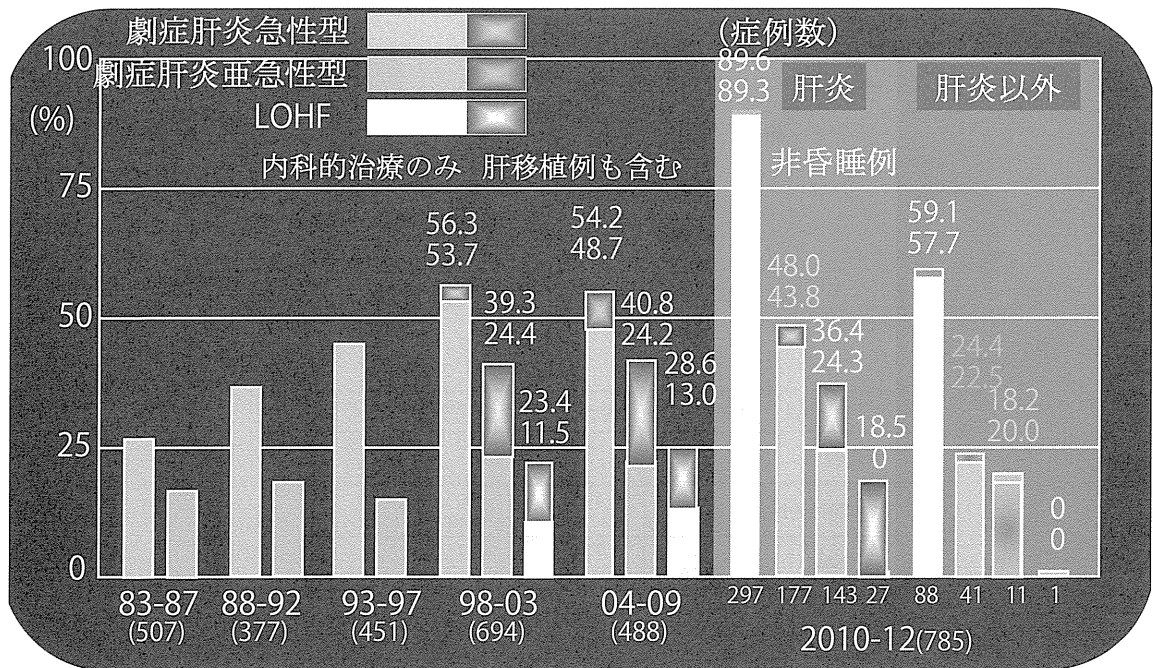


図11. 急性肝不全の救命率 (1983~2012年)

表1. 急性肝不全, LOHFの背景因子

-2010~12年: 785例 - *p<0.05 vs 非昏睡型, #p<0.05 vs LOHF

肝 炎	非昏睡型 (n=297)	急性型 (n=177)	亜急性型 (n=143)	LOHF (n=27)
男:女	166:131	100:77	66:77	14:13
年齢(平均±SD)	47.0 ± 18.0 [#]	50.0 ± 20.5 [#]	53.9 ± 19.2 ^{**#}	63.7 ± 10.2 [*]
HBV carrier (%)	6.4	7.1	10.2	7.7
基礎疾患 (%)	48.8	58.4	53.5	74.1
薬物歴 (%)	55.2	64.0	67.9	72.0
肝炎以外	非昏睡型 (n=88)	急性型 (n=41)	亜急性型 (n=11)	LOHF (n=1)
男:女	57:31	16:25	5:6	1:0
年齢(平均±SD)	54.6 ± 20.9	55.1 ± 19.2	55.6 ± 24.7	67
HBV carrier (%)	2.4	0	0	0
基礎疾患 (%)	73.6	82.1	72.7	100
薬物歴 (%)	63.2	89.7	80.0	100

表2. 急性肝不全, LOHF (肝炎症例) の画像所見

-2012年: 211例 -

	非昏睡型 n=107	急性型 n=49	亜急性型 n=45	LOHF n=10
肝萎縮 (%)	17.6 (18/102)	45.2* (19/42)	74.4** (29/39)	70.0** (7/10)

*p<0.01 vs 非昏睡型, #p<0.05 vs 急性型

表3. 急性肝不全における合併症 (%)
- 2010~12年 : 785例 -

	肝 炎				肝炎以外 n=141
	非昏睡型 n=297	急性型 n=177	亜急性型 n=143	LOHF n=27	
感 染	13.2	34.0	35.5	65.2	40.8
脳浮腫	0	23.8	12.3	4.2	2.5
消化管出血	4.1	13.6	15.1	19.5	21.1
腎不全	16.9	49.1	40.4	63.0	59.4
DIC	11.5	47.9	44.8	51.9	58.6
心不全	1.7	12.4	10.2	3.8	33.6

表4. 急性肝不全の合併数と内科的治療例における救命率 (%)
- 2010~12年 : 785例 -

	肝 炎								肝炎以外	
	非昏睡型 n=297		急性型 n=177		亜急性型 n=143		LOHF n=27		n=141	
	症例 数	率 (%)	症例 数	率 (%)	症例 数	率 (%)	症例 数	率 (%)	症例 数	率 (%)
0	219	97.7	52	70.3	41	36.0	3	0	26	84.0
1	39	84.2	40	59.4	36	40.0	6	0	23	61.9
2	18	55.6	27	36.4	29	12.5	8	0	37	41.7
3	14	25.0	32	16.1	25	19.0	8	0	33	25.0
4以上	7	57.1	25	21.7	12	0	2	0	22	13.6

表5. 急性肝不全（肝炎症例）における治療（％）
- 2010～12年：644例 -

	非昏睡型 n=297	急性型 n=177	亜急性型 n=143	LOHF n=27
副腎皮質ステロイド	59.2	58.7	73.0	53.8
GI療法	3.4	9.5	10.8	7.7
特殊組成アミノ酸	5.9	16.2	21.6	28.0
血漿交換	15.6	80.6	75.5	63.0
血液濾過統制	11.6	74.3	66.0	63.0
プロスタグランジン	0.7	1.8	3.6	4.0
インターフェロン	5.8	9.3	6.3	4.0
サイクロスポリン	2.7	4.7	7.9	0
核酸アナログ	20.4	34.9	26.2	38.5
抗凝固療法	21.8	36.7	35.5	44.0
肝移植	2.4	17.5	25.2	22.2

表6. 急性肝不全，LOHFの救命率（％）
- 2010～12年：785例 -

肝 炎	非昏睡型 (n=297)	急性型 (n=177)	亜急性型 (n=143)	LOHF (n=27)
内科治療	89.3 (259/290)	43.8 (64/146)	24.3 (26/107)	0 (0/21)
肝移植	100.0 (7/7)	67.7 (21/31)	72.2 (26/36)	83.3 (5/6)
全体	89.6 (266/297)	48.0 (85/177)	36.4 (52/143)	18.5 (5/27)

肝炎以外	非昏睡型 (n=88)	急性型 (n=41)	亜急性型 (n=11)	LOHF (n=1)
内科治療	57.7 (49/85)	22.5 (9/40)	20.0 (2/10)	0 (0/1)
肝移植	100 (3/3)	100 (1/1)	0 (0/1)	-
全体	59.1 (52/88)	24.4 (10/41)	18.2 (2/11)	0 (0/1)

表7. 急性肝不全, LOHFの成因と内科的治療による救命率 (%)
 - 2010~12年: 肝移植実施を施行していない700例 -

	非昏睡型	急性型	亜急性型	LOHF
ウイルス性	92.9 (105/113)	34.3 (24/70)	8.6 (3/35)	0 (0/10)
A 型	100 (313/31)	57.1 (4/7)	100 (1/1)	-
B 型	89.2 (58/65)	33.3 (14/42)	6.1 (2/33)	0 (0/9)
急性感染	95.8 (46/48)	35.3 (12/34)	33.3 (2/6)	0 (0/1)
Carrier	73.3 (11/15)	23.1 (3/13)	0 (0/25)	0 (0/8)
自己免疫性	85.0 (34/40)	25.0 (1/4)	29.4 (5/17)	0 (0/6)
薬物性	84.2 (32/38)	75.0 (18/24)	46.7 (7/15)	0 (0/2)
成因不明	89.1 (82/92)	41.4 (17/41)	26.3 (10/38)	0 (0/3)
肝炎以外	55.7 (49/85)	22.5 (9/40)	20.0 (2/)	0 (0/1)

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

総合研究報告書

肝内結石症に関する調査研究

研究分担者 中沼 安二 金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 教授

研究要旨: 難治性の肝・胆道疾患である肝内結石症の現状の把握, 診断・治療成績の向上と診療ガイドライン作成, 胆管癌の発癌機序の解明と発癌予測を主要な研究課題とし調査研究を行った。研究目的を効率よく達成するため (1) 疫学・予後調査ワーキング, (2) 診断・治療ワーキング, (3) 発癌ワーキング, (4) 発癌予知 (画像診断) ワーキングの4つを組織した。肝内結石症の疫学・予後に関する第7期全国調査によりわが国における同症の最新の疫学データを得た。また, コホート研究の成果, 画像診断の進歩, 成因, 診断, 治療, 病態に関する新しい情報を国内外に発信した。日常診療へ貢献する成果として肝内結石症の診療ガイド等の発表や胆汁, 血清検体からの胆管癌診断の簡易測定キットを開発した。本研究により, 肝内結石症の疫学・予後, 診断・治療, 胆管癌の発癌機序と発癌予測に関する数多くの新しい知見が集積された。

研究分担者

中沼 安二 金沢大学医薬保健研究域医学系形態機能病理学 教授

研究協力者

森 俊幸 杏林大学医学部消化器一般外科学 教授

榎野 正人 名古屋大学大学院腫瘍外科学 教授

佐田 尚宏 自治医科大学消化器一般外科 教授

田妻 進 広島大学病院総合内科総合診療科 教授

八坂 貴宏 長崎県上五島病院 院長

露口 利夫 千葉大学大学院医学研究院消化器・腎臓内科学 講師

正田 純一 筑波大学医学医療系医療科学 教授

本多 政夫 金沢大学大学院病態検査学講座 教授

山上 裕機 和歌山県立医科大学第二外科 教授

内山 和久 大阪医科大学一般・消化器外科 教授

海野 倫明 東北大学大学院医学系研究科消化器外科 教授

病院総合診療科教授), (3) 発癌ワーキング (代表: 中沼安二研究分担者, 金沢大学医薬保健研究域医学系形態機能病理学教授), (4) 発癌予知 (画像診断) ワーキング (代表: 佐田尚宏研究協力者, 自治医科大学消化器一般外科教授) である。

(1) 疫学・予後調査ワーキングでは, 過去6回行われた肝内結石症の全国調査に関して, 前回調査からすでに5年が経過していることから, 同症の現状の把握と過去との比較解析を行うことを目的とし, 新規の多施設全国調査 (多施設における診療録ベースでのretrospective study) を行った。本調査に先立ち所属機関の倫理審査の承認を得た。

(2) 診断・治療ワーキングでは, 診療実績に基づく肝内結石症と肝内胆管病変のガイドライン改訂を検証した。

(3) 発癌ワーキングでは, 肝内結石症からの発癌機序の解明ならびに癌の早期発見に有用なバイオマーカーの探索を行った。肝内結石症の病理組織学的な検討と胆汁, 血清をサンプルとした解析を主に行った。本研究計画は所属機関の倫理委員会の承認を得た。

(4) 発癌予知 (画像診断) ワーキングでは, 肝内胆管癌合併肝内結石症が予後不良な原因として, 診断される症例の過半数がStage IVbで発見され, 早期発見する手段が確立されていないことによるため, 実臨床に寄与する鑑別診断情報を提供すべく, 肝内胆管癌合併肝内結石症および肝内胆管癌非合併肝内結石症のアトラス作成を行った。

これら4つのワーキンググループ主導の研究に平行して, 研究協力者が個別研究として, 肝内結石症の疫学・予後, 診断・治療, 病態・発癌に関する検討を行った。

A. 研究目的

肝内結石症は難治性の肝・胆道疾患の一つであり, 再発を繰り返すことが多い。また, 反復する胆管炎やそれに引き続き肝膿瘍, 敗血症を併発する。さらに肝内胆管癌の合併が多く, 発癌が臨床上の大きな予後規定因子となっている。本研究は, わが国における肝内結石症の現状の把握, 診断・治療成績の向上と診療ガイドライン作成, 胆管癌の発癌機序の解明と発癌予測を主要な研究目的とした。

B. 研究方法

研究目的を効率よく達成するため4つのワーキンググループを立ち上げ, 各々のワーキンググループの代表者の主導のもと研究を遂行した。具体的には (1) 疫学・予後調査ワーキング (代表: 森俊幸研究協力者, 杏林大学医学部消化器一般外科学教授), (2) 診断・治療ワーキング (代表: 田妻進研究協力者, 広島大学

C. 研究結果

I. ワーキンググループ

(1) 疫学・予後調査ワーキング

1次調査にて肝内結石症例の有無, 胆嚢結石症・肝外胆管結石症例数を調査し, 引き続き2次調査として患者背景, 肝内結石の病状, 合併症, 肝内胆管癌の有

無、治療内容、転帰など詳細な症例調査を行った。第7期全国調査(94施設/299例の肝内結石症を登録)を解析した結果、患者背景に大きな変化はなかったが、高齢化が進行し、ビリルビン結石が減少傾向にあった。治療法に関しては、手術的治療が減少し、非手術的治療が増加していたが、特に非手術的治療において経乳頭的内視鏡治療の増加が目立った。結石遺残例は66例(22%)、結石再発例18例(6%)であった。胆道癌合併は7例(2.3%) (肝内胆管4例、肝外胆管2例、胆嚢1例)であった。肝内型の増加とビリルビン結石の再増加が明らかであった。非手術的治療の増加と手術的治療の減少が著しく、低侵襲治療の増加と普及が進んでいた。肝切除は手術的治療で最多であり、短期成績も良好で、肝内結石に対する根治治療として十分推奨されると思われた。一方、非手術的治療では経乳頭的内視鏡的治療が最多であったが、その短期成績は不良であった。内視鏡治療症例において、経過中の胆道狭窄と胆道拡張が結石再発の有意な危険因子であった。

(2) 診断・治療ワーキング

2009年に日本消化器病学会から胆石症診療ガイドラインが発表され、その中で肝内結石治療のあり方についてのフローチャートが示されている。本研究では実地診療での活用動態に関する調査結果をもとに診療ガイドラインの問題点を探った。多数症例の診療実績を有する全国25施設における診療実績調査から、①肝内結石症の背景として胆道系の手術既往例が過半数を占めるまでに増加していること、②治療手技としてバルーン内視鏡を用いた径十二指腸的アプローチが増加していることが分かり、それらの実情を考慮した胆石症診療ガイドライン改訂の必要性が示された。また、肝内結石症の診療ガイドとIgG4関連硬化性胆管炎臨床診断基準を示した。

(3) 発癌ワーキング

生化学的アプローチとして、胆管癌診断のバイオマーカーの商品化の実現を目指し、胆汁と血清を用いた新規バイオマーカーの探索を行った。その結果、胆管癌検出に有用な糖タンパクマーカー、WFA-MUC1の発見、および簡易測定キットの開発に成功した(平成25年10月、米国特許取得)。WFA-MUC1は、従来の腫瘍マーカーであるCA19-9と比較して、胆汁および血清において同等の診断能力を有すると考えられた。WFA-MUC1とCA19-9とのコンビネーション解析にて、胆管癌診断精度が向上することが確認出来た。今後、血清・胆汁のより多検体を用いた本コンビネーションの有用性を引き続き検証していくことが肝要と考えられた。

病理学的アプローチでは、肝内結石症からの発癌における前癌病変の一つとして知られている胆管内乳頭状腫瘍(intraductal papillary neoplasm of the bile duct, IPNB)に着目し、乳頭状病変からの発癌と進展に関する多施設研究を行った。胆管内発育型肝内胆管

癌と乳頭膨張型胆道癌の外科的切除材料(計154例)を病理組織学的に観察した結果、従来、胆管内発育型肝内胆管癌、乳頭膨張型胆道癌と診断された症例の多くはIPNBに相当した。その多くは先行疾患が不明であったが、4例に肝内結石症があった。IPNBは表現型(胆嚢型、胃型、腸型、オンコサイト型)により病態の違いが示唆された。粘液産生は35%の症例に認められた。IPNBは診断時、大部分は癌化しており、非浸潤癌、軽微浸潤癌が多くを占めた。

前癌/早期癌病変である胆管上皮層内腫瘍(biliary intraepithelial neoplasia, BilIN)とIPNBを対象として、KRAS, GNAS 遺伝子変異の検討を行った結果では、KRAS変異はBilIN病変の約30%、BilIN病変背景の異型のない胆管上皮や付属腺上皮の約40%、肝内胆管癌の約30%、IPNBの約50%に認められた。一方、GNAS変異はBilIN病変、肝内胆管癌にはみられず、IPNBの約50%に認められた。

(4) 発癌予知(画像診断)ワーキング

従来型の診断modality(ERC, PTC(S))は肝内胆管癌早期発見に有効ではなく、また、急速に進化を遂げている新たなmodality(MD-CT, FDG-PET, Diffusion MRI, Perfusion CT)の有効性評価も症例数そのものが少ないため現時点では確立されていない。そのため、実臨床に寄与する鑑別診断情報を提供することを目的に、肝内胆管癌合併肝内結石症および肝内胆管癌非合併肝内結石症を集積した画像アトラスの作成を行った。

2001-2010年の10年間を対象としたアンケート調査では、11施設から肝内胆管癌合併症例を有するとの回答を得た。これらの施設を中心に、手術症例、病理マクロ写真が画像と対比できる症例を対象とし、US, CT, MRI, ERC, PTC(S), FDG-PET, MRI(DWI), Perfusion CTなど、多くの画像診断を行った症例を検討し、多角的に病変部がみられるような画像中心のアトラスとした。

II. 個別研究

(1) 疫学・予後

森研究協力者：術前に肝内胆管癌を強く疑い手術を施行し、術後の最終病理診断で癌を認めなかった症例を「肝内胆管癌偽陽性症例」と定義し、その臨床病理像を検討した。肝内胆管癌疑陽性症例は、高齢男性・左葉例が約70%で、肝内結石合併例・胆道治療歴・肝萎縮・腫瘍マーカー異常例は15~25%、生検施行例6%、細胞診施行例25%、葉切除が約70%、肝不全等の重大な合併症はなく手術関連死亡も無し、肝内結石の有無による特徴は無しという特徴があった。

八坂研究協力者：①肝内結石症と胆道癌のリスク集団ベースの追跡研究を行った。10年間の追跡期間中、肝内結石症患者の15.4%および比較コホート患者の1.0%が胆道癌を発症し、肝内結石症患者の7.7%に肝内胆管癌を発症した。比較コホートの患者に比べ肝内結石症患者は10年間の胆道癌の発生率、死亡率が有意

に高かった。患者の人口統計学的特性、選択した併存疾患などの補正を行ったところ、肝内結石症患者は対応する比較コホートの患者に比べて胆管癌発症リスクが18.2倍高かった。②肝内胆管合併肝内結石症(16例)を検討し、(a)肝葉萎縮を伴う肝内結石症例では、肝内胆管癌併発の可能性を念頭に置き結石の存在部位診断を行い、肝切除を積極的に選択すべきであること、(b)IE, LRあるいはL型の症例、截石術のみで経過観察されている症例、胆道再建手術症例は術後の癌発生を高率であり、嚴重なフォローアップが必要であること、(c)フォローアップ時にCA19-9の感度は80%と高かったが、画像診断で癌の合併を早期に診断することは困難であった。③肝内結石症多発地域である長崎県・上五島地区において、肝内結石症および総胆管結石症、胆嚢結石症の発症率の変化について調査した。上五島地区の肝内結石症の全胆石症に占める割合は2010年～2013年で3.9%であり、全胆石症の増加のためその割合は減少傾向にあった。患者実数は横ばい状態で、年1～2例の発症をみた。しかし、1970年以降の生年者に現在のところ肝内結石症新診断例がなく、高齢者人口が減少しはじめることから、今後有病率は低下していくことが予測された。

(2) 診断・治療

榑野研究協力者：①術前に肝門部胆管癌と診断して根治切除を施行したが、実際は肝内結石症であった6症例について解析し、肝門部胆管癌との鑑別が困難な肝内結石症に対する肝切除術+肝外胆管切除による治療は妥当であるとした。②胆石症の手術既往を有する肝内結石症(8例)を検討し、胆嚢摘出術後には肝内結石症を発症する可能性があり、総胆管や左右肝管に何らかの術中操作を加えた場合、術後の長期経過を注意深く観察する必要があること、および肝内結石症と診断した場合、結石の局在、肝萎縮の有無、胆管狭窄の有無に配慮した治療を施行することで、良好な治療経過が得られた。③胆道再建の手術既往を有する肝内結石症の検討を行った結果、経過を追跡しえた肝内結石症81例中、27例(男性5例、女性22例、平均年齢57歳)が過去に胆道系疾患のため胆道再建術の既往を有していた。治療法は、胆管癌合併のあった3例中、2例に癌の進展度に応じた肝切除、1例は局所進行のため非切除となった。胆管癌合併のない24例に対しては、21例にPTCSを施行、2例は経過観察、1例は結石が片葉に局在し肝萎縮を認めため肝切除を施行した。PTCS施行例(21例)では、PTCS終了後、胆管狭窄・肝萎縮を認めなかった17例は経過観察、胆管狭窄・肝萎縮を認めた4例は手術を施行した。治療後の平均観察期間は6年(1-13年)であり、27例中6例(22%)に結石が再発した。

露口研究協力者：①CT/MRCPで上部胆管～肝門部の胆管癌の鑑別が必要であった高齢発症の肝内結石症例では、いずれも胆道系酵素の軽度上昇のみで胆管炎の発症はなく、IgG4は高値でなかった。胆道鏡で繰り返して観察することで早期から除外診断を行

い、不要な手術を回避できる可能性が示唆された。②検診などで偶然に指摘された無症状肝内結石症の長期予後を解析し、手術や内視鏡の治療などの介入が必要かどうかを検討した。無症状肝内結石症の予後は概ね良好であり、経過観察が妥当であること、胆道再建術後例(先天性胆道拡張症術後)は胆管炎の危険因子であり、治療介入が必要となる可能性が高いことが示された。③近年、胆道再建術後肝内結石症に対して普及しつつあるダブルバルーン(DBE)内視鏡によるERCPの成績を検討した結果、最近4年間に施行した13症例(のべ27件)の背景疾患は良性疾患9例、悪性疾患が4例で、結石除去には成功しているが再発、胆管炎を繰り返す症例があり、経皮経肝胆道鏡(PTCS)同様、根治性には難点が認められた。胆道再建術後例に対するDBE-ERCPは結石除去に有効であるが、胆管狭窄や肝葉萎縮に対しては従来どおり肝切除を考慮すべきと考えられた。

内山研究協力者：①完全腹腔鏡下肝切除術症例と従来の開腹例との比較検討を行った。腹腔鏡下肝切除は従来の開腹手術よりも安全に低侵襲で施行することが可能で、特に結石の左葉限局型の多い肝内結石症に対しては、完全肝左葉切除や単孔式外側区域切除の良い適応と考えられた。②肝内結石症に対する遺残のない根治治療として肝切除術が望まれるが、現在の腹腔鏡治療の進歩に伴い、良性疾患である肝内結石症の肝切除にも低侵襲である腹腔鏡下肝切除が応用されるべきと考え、完全腹腔鏡下肝切除術症例を従来の開腹例との比較検討を行った。その結果、腹腔鏡下肝切除は従来の開腹手術よりも安全に低侵襲で施行することが可能であることが明らかとなった。

(2) 病態・発癌

中沼研究分担者：①肝内結石症からの発癌過程におけるS100ファミリータンパク質の発現を病理組織学的に検討し、BiIN-1,2,3から浸潤癌へと異型度が増すにしたがってS100ファミリータンパク質の発現が増加すること、さらに検討した分子の中でS100Pの免疫染色がBiINの組織診断における診断補助マーカーとして有用であることを示した。②胆管周囲付属腺にみられる嚢胞状拡張を伴う顕微鏡的な上皮の微小乳頭状の増生病変の特徴を病理組織学的に検討した。同病変は腫瘍性の性格を有し、「分枝型」IPNBや傍肝門胆管癌の前駆病変である可能性を示した。③胆管癌におけるオートファジー分子発現と上皮-間葉移行(epithelial-mesenchymal tenasition, EMT)の関連性について検討した。胆管癌細胞株でTGF- β を用いてEMTを誘導し、オートファジー阻害剤の添加の有無によるEMT関連遺伝子の発現量を比較検討した結果、オートファジー阻害剤添加群でのEMT関連遺伝子(vimentin)の発現低下が有意に認められた。また、胆管癌手術検体を用いてオートファジーおよびEMT関連分子の発現を免疫組織化学的に検討したところ、オートファジー関連分子 ambra-1と EMT 転写因子 snail に有意な関連性を認めた。以上より、胆管癌に

においてオートファジーと EMT の相互関連性が示唆され、胆管癌の発癌・進展にはオートファジーの関与が考えられた。

本多研究協力者：胆汁における microRNA (miRNA) に着目し、腫瘍マーカーとしての可能性を検討した。腫瘍群、非腫瘍群の胆汁中における 380 種の miRNA を TaqMan-PCR 法を用いて測定した結果、腫瘍群と非腫瘍群を分ける 15 個の miRNA が同定された。さらに、胆道系腫瘍に特異的な 2 つの miR-451 及び miR-486 を同定した。miR-451 は胆汁中に分泌される分泌優位の miRNA で、胆管癌細胞株 Huh28 細胞で過剰発現させると EMT シグナルの低下、炎症シグナルの低下を認めた。一方、miR-486 を過剰発現させると EMT シグナル、炎症シグナルの亢進が認められた。

海野研究協力者：① LC-MS/MS を用いた肝細胞トランスporter 発現の解析を行い、胆汁酸を投与したマウス肝では細胞増殖が生じたが、複数の血管側膜トランスporter が低下し、基質薬剤の輸送および薬効に影響を与えること、および胆汁酸投与による肝再生促進には合成酵素誘導による肝内 GSH 濃度の上昇と *oatp1* の発現減少が寄与していることを明らかにし、肝内 GSH 増加作用のある薬剤は肝再生促進に作用する可能性があることを示した。②胆汁酸投与マウス肝における細胞膜トランスporter および代謝酵素の蛋白発現解析を行った。胆汁酸投与後のマウス肝において血管側トランスporter の発現低下を認めたが、休薬期間をおくことでトランスporter や酵素の発現量は回復し、臨床応用への可能性が示唆された。また、コール酸投与により肝細胞内で酸化ストレスが誘因と考えられる GSH 合成酵素の発現量上昇と肝内 GSH レベルが上昇していることを示した。③胆汁酸刺激による肝細胞表現型の変化を LC-MS/MS 同時絶対定量法にて検討し、肝細胞内グルタチオン動態の解析を行った。その結果、胆汁酸刺激によってもたらされる酸化ストレスが GSH 合成を促進させ、細胞保護作用をもたらす可能性を示した。

田妻研究協力者：①肝内胆管障害と G タンパク共役型受容体に関する検討を行い、lysoPC は胆管上皮細胞に対し細胞障害性を示すこと、および lysoPC は ox-FFA をリガンドとする G2A 受容体の発現を誘導し、lysoPC の作用に G2A が関与している可能性を示した。②胆汁中 lysophosphatidylcholine (lysoPC) が胆管上皮細胞に与える細胞障害とそのメカニズムの解明を目的とした検討を行った。lysoPC は胆管上皮細胞に対し apoptosis を主体とする細胞障害性を有すること、lysoPC は G2A の発現を誘導し、G2A のリガンドである ox-FFA は lysoPC との併用で強い細胞障害性を有することを示した。lysoPC 及び ox-FFA は PC を基質とした PLA2 の加水分解産物であることから、胆汁中 PLA2 の上昇は病態形成に重要と考えられた。③胆汁中リゾリン脂質の胆管上皮細胞に対する細胞障害と発癌に関する検討を行い、lysoPC は胆管上皮細胞に対し酸化ストレスを誘導し、DNA 傷害を惹起する可能性を示した。

正田研究協力者：①胆管癌細胞に対する新しいバイオ療法として、膜融解性ハイブリッドペプチド IL-4-lytic の抗腫瘍効果を *in vitro* および *in vivo* モデルにおいて検討した。IL-4-lytic は用量依存性に胆管癌細胞の増殖を抑制した。また、皮下腫瘍モデルにおいても、IL-4-lytic の腫瘍内投与により容量依存性に腫瘍の増大を抑制した。これらの結果より、IL-4-lytic は胆管癌に対する新しいバイオ治療薬として有用である可能性を示した。②胆嚢および胆管癌細胞に対する新しいバイオ療法として、膜融解性ハイブリッドペプチド HER2-lytic の抗腫瘍効果を *in vitro* モデルにおいて検討した。HER2-lytic は用量依存性に胆管癌細胞の増殖を抑制し、また、HER2-lytic の抗腫瘍効果は、gefitinib および GW2974 の tyrosine kinase inhibitor であるとはほぼ同等であり、HER2-lytic は胆道系悪性腫瘍に対する新しいバイオ治療薬として有用である可能性を示した。

D. 考 察

疫学・予後調査では、治療法に関して手術的治療が減少し、非手術的治療が増加しており、特に非手術的治療において経乳頭の内視鏡治療の増加が目立つことが近年の大きな特徴であった。ERCP は他の治療に比べ結石遺残や再発が多く、胆道狭窄や胆道拡張に対する治療効果も高くない。乳頭切開などの乳頭機能と成績の相関は、今後検討を要する重要な課題と考えられた。また、内視鏡的治療を行う際は切石のみでなく、胆道狭窄の解除と胆汁うっ滞の排除が重要であり、高度な胆管狭窄や胆管拡張の残存があれば、内視鏡的治療ではなく他の治療法を選択すべきと考えられた。

画像診断では、依然として肝内結石症における肝内胆管癌の合併を早期に診断することは困難であり、新たな診断法の確立が今後の課題として残された。

発癌の病態として、肝内結石症からの発癌の約 1/3 は腺癌と同様、早期段階での KRAS 変異を経由すること、乳頭型異型病変の発生には腺癌と同様に GNAS 変異が関与する可能性が示された。また、胆道系腫瘍に関連する miRNA も示され、こうした分子生物学的な成績を今後、胆管癌の早期診断や治療面に応用していく必要がある。

E. 結 論

肝内結石症に関する研究は世界に類をみないわが国固有の調査研究である。今回の調査研究においても、肝内結石症の疫学・予後、診断・治療、胆管癌の発癌機序と発癌予測に関して数多くの新しい知見が集積された。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表（平成23年度）

書籍

著者名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
阿部雅則, 恩地森一	自己免疫性肝炎	高橋信一	消化器診療最新ガイドライン第2版	総合医学社	東京	2011	174-177
石橋大海, 下田慎治, 中村 稔	原発性胆汁性肝硬変	高橋信一	消化器診療最新ガイドライン第2版	総合医学社	東京	2011	168-173
石橋大海, 下田慎治, 中村 稔	第6章 自己免疫性肝障害の診断と治療. 原発性胆汁性肝硬変の成因と発症機序	戸田剛太郎 他	消化器疾患の最新医療（先端医療シリーズ42「消化器疾患の最新医療」）	寺田国際事務所/先端医療技術研究所	東京	2011	114-117
鈴木義之	⑤ B 型慢性肝炎の治療 b) ラミブジン	虎の門病院 肝臓センター	これだけは知っておきたい B 型慢性肝炎の診断と治療	医薬ジャーナル社	東京	2011	54-62
宮本康弘, 吉田雄一, 小野寺美緒, 片岡晃二郎, 柿坂啓介, 及川寛太, 熊谷一郎, 黒田英克, 宮坂昭生, 滝川康裕, 鈴木一幸	劇症肝炎に対する人工肝補助療法の有効性と再生治療の必要性	市田隆文	第37回日本急性肝不全研究会 急性肝不全 今、何が議論され、問題になっているのか	アークメディア	東京	2011	33-37
藤原慶一, 横須賀收	難治性急性肝不全の診断・内科的治療に関する考察	市田隆文	第37回日本急性肝不全研究会 急性肝不全 今、何が議論され、問題になっているのか	アークメディア	東京	2011	24-32
井上和明	急性肝不全・劇症肝炎での対応	真弓俊彦	レジデントノート増刊「知りたい」に答える！ICUでの重症患者管理	羊土社	東京	2011	1862-1866
田妻 進	胆石症・胆道炎・胆道がん MAP 図表で見る胆石症・胆道炎・胆道がん	田妻 進	新しい診断と治療のABC71	最新医学社	大阪	2011	別冊
正田純一	胆石症・胆道炎・胆道がん 第1章 胆石症病因・病態生理	田妻 進	新しい診断と治療のABC71	最新医学社	大阪	2011	13-25

研究成果の刊行に関する一覧表（平成23年度）

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Abe M, Mashiba T, <u>Zeniya M</u> , <u>Yamamoto K</u> , <u>Onji M</u> , <u>Tsubouchi H</u> , the Autoimmune Hepatitis Study Group, a subgroup of the Intractable Hepato-Biliary Disease Study Group in Japan.	Present status of autoimmune hepatitis in Japan: a nationwide survey.	J Gastroenterol	46	1136-1141	2011
<u>Onji M</u> , Autoimmune Hepatitis Study Group.	Proposal of autoimmune hepatitis presenting with acute hepatitis, severe hepatitis and acute liver failure.	Hepatol Res	41	497	2011
<u>恩地森一</u> , 阿部雅則	自己免疫性肝炎診療・研究の現状と今後	日本消化器病学会雑誌	108	7-20	2011
<u>恩地森一</u>	急性肝炎ないしは重症肝炎，急性肝不全として発症する自己免疫性肝炎の病態についての提唱	肝臓	52	327	2011
阿部雅則，多田藤政， <u>恩地森一</u>	異時性 PBC/AIH オーバーラップ	肝胆膵	62 (4)	693-698	2011
Kajiwara A, Doi H, Eguchi J, Ishii S, Hiraide A, Sakaki M, Omori R, <u>Hiroishi K</u> , Imawari M.	IL-4 and CpG therapy suppresses the outgrowth of tumors by activating tumor-specific Th1-Ttype immune responses.	Oncology Rep	27 (6)	1765-1771	2011
Kamijo A, <u>Yoshizawa K</u> , Joshita S, Yoneda S, Umemura T, Ichijo T, Matsumoto A, Ota M, Tanaka E.	Cytokine profiles affecting the pathogenesis of autoimmune hepatitis in Japanese patients.	Hepatol Res	41	350-357	2011
Aiba Y, Nakamura M, Joshita S, Inamine T, Komori A, <u>Yoshizawa K</u> , Umemura T, Horie H, Migita K, Yatsunami H, <u>Nakamura M</u> , Fukushima N, Saoshiro T, Hayashi S, Kouno H, Ota H, Muro T, Watanabe Y, Nakamura Y, Komeda T, Shimada M, Masaki N,	Genetic polymorphisms in CTLA4 and SLC4A2 are differentially associated with the pathogenesis of primary biliary cirrhosis in Japanese patients.	J Gastroenterol	46	1203-1212	2011

Komatsu T, Yagura M, Sugi K, Koga M, Tsukamoto K, Tanaka E, <u>Ishibashi H</u> , The PBC Study Group in NHOSLJ.					
Umemura T, Joshita S, Ichijo T, <u>Yoshizawa K</u> , Katsuyama Y, Tanaka E, Ota M, The Shinshu PBC Study Group.	Human leukocyte antigen class II molecules confer both susceptibility and progression in Japanese patients with primary biliary cirrhosis.	Hepatology	55	506-511	2012
<u>Zeniya M</u> , Takahashi H.	Characteristics of autoimmune hepatitis in the Asia-Pacific Region: historical review.	Hepatol Int	6	342-349	2012
Takahashi H, <u>Zeniya M</u> .	Acute presentation of autoimmune hepatitis; Does it exist? A published work review.	Hepatol Res	41	498-504	2011
<u>Zeniya M</u> , Takahashi H.	Diagnostic criteria for autoimmune hepatitis: Historical review and present problems.	Jikeikai Medical Journal	58	89-93	2011
高橋宏樹, 銭谷幹男	自己免疫性肝炎の診断におけるスコアリングシステムの位置付け	日本消化器病学会雑誌	108	1837-1844	2011
Inamine T, <u>Nakamura M</u> , Kawauchi A, Shirakawa Y, Hashiguchi H, Aiba Y, Taketomi A, Shirabe K, <u>Nakamura M</u> , Hayashi S, Saoshiro T, Komori A, Yatsuhashi H, Kondo S, Omagari K, <u>Maehara Y</u> , <u>Ishibashi H</u> , Tsukamoto K; the PBC Study Group in NHOSLJ.	A polymorphism in the integrin αV subunit gene affects the progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients.	J Gastroenterol	46 (5)	676-686	2011
Tanaka A, Harada K, <u>Ebinuma H</u> , Komori A, Yokokawa J, <u>Yoshizawa K</u> , Abe M, Miyake Y, <u>Kikuchi K</u> , <u>Ohira H</u> , <u>Zeniya M</u> , <u>Yamamoto K</u> , <u>Ishibashi H</u> , <u>Onji M</u> , <u>Nakanuma Y</u> , <u>Tsubouchi H</u> , <u>Takikawa H</u> .	Primary biliary cirrhosis - Autoimmune hepatitis overlap syndrome: A rationale for corticosteroids use based on a nation-wide retrospective study in Japan.	Hepatol Res	41 (9)	877-886	2011

Migita K, Watanabe Y, Jiuchi Y, Nakamura Y, Saito A, Yagura M, Ohta H, Shimada M, Mita E, Hijioka T, Yamashita H, Takezaki E, Muro T, Sakai H, <u>Nakamuta M</u> , Abiru S, Komori A, Ito M, Yatsuhashi H, <u>Nakamura M</u> , <u>Ishibashi H</u> ; Japanese NHO-Liver-network study group.	Hepatocellular carcinoma and survival in patients with autoimmune hepatitis (Japanese National Hospital Organization- autoimmune hepatitis prospective study).	Liver Int	32 (5)	837-844	2012
<u>中村 稔</u> , 相葉佳洋, 小森敦正, <u>下田慎治</u> , <u>石橋大海</u>	PBCの予後予測：自己抗体を基盤に。ー特集 自己免疫性胆管疾患のオーバーラップス：PBC/AIH, PSC/AIH と PSC/IgG4 関連硬化性胆管炎を中心にー	肝胆膵	62 (4)	707-714	2011
<u>石橋大海</u> , <u>下田慎治</u> , 小森敦正, <u>中村 稔</u> .	PBCの病態の多様性と治療ガイドライン。ー特集 自己免疫性胆管疾患のオーバーラップス：PBC/AIH, PSC/AIH と PSC/IgG4 関連硬化性胆管炎を中心にー	肝胆膵	62 (4)	715-722	2011
小森敦正, <u>中村 稔</u> , <u>石橋大海</u> .	自己免疫性胆管疾患の病態形成への自然免疫の関与。ー特集 自己免疫性胆管疾患のオーバーラップス：PBC/AIH, PSC/AIH と PSC/IgG4 関連硬化性胆管炎を中心にー	肝胆膵	62 (4)	639-643	2011
<u>中村 稔</u> , <u>石橋大海</u> , 安波道郎	PBCに関する HLA 個体差	肝胆膵	62 (5)	945-952	2011
<u>石橋大海</u>	最新のガイドラインを学ぶ⑥ PBC	たんじゅうさん	10 (1)	32	2011
<u>石橋大海</u> , 小森敦正, <u>下田慎治</u> , <u>中村 稔</u>	肝と免疫, 原発性胆汁性肝硬変, (3) 治療と予後	臨床消化器内科	26 (11)	1517-1521	2011
戸田剛太郎, <u>石橋大海</u> , 大西三朗, 岡上 武, <u>恩地森一</u> , 賀古 眞, 金子周一, 上村朝輝, 川崎寛中, 佐田通夫, 鈴木一幸, 田中直見, 林 直諒, 牧野 勲, 渡辺純夫	原発性胆汁性肝硬変に対するウルソデオキシコール酸長期使用と臨床経過ーウルソーPBC 特別調査研究会ー	肝臓	52 (9)	584-601	2011

中村 稔, 石橋大海	遺伝子多型は自己免疫性肝胆道疾患の病態にせまれるか。一特集; 遺伝子多型による消化器疾患の理解 —	分子消化器病	8 (3)	205-211	2011
中村 稔, 相葉佳洋	核膜孔複合体タンパク質 GP210	生体の科学	62 (5)	386-387	2011
石橋大海, 小森敦正, 下田慎治	原発性胆汁性肝硬変. 内科疾患インストラクションガイド 何をどう説明するか.	Medicina	48 (11)	287-289	2011
Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Arase Y, Hirakawa M, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kobayashi M, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K, Kumada H.	Influence of ITPA polymorphisms on decreases of hemoglobin during treatment with pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir.	Hepatology	53 (2)	415-421	2011
Arase Y, Suzuki Y, Suzuki F, Matsumoto N, Akuta N, Imai N, Seko Y, Sezaki H, Kawamura Y, Kobayashi M, Hosaka T, Saito S, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H.	Efficacy and safety of combination therapy of natural human interferon beta and ribavirin in chronic hepatitis C patients.	Internal Medicine	50	ID41646	2011
Kobayashi M, Hosaka T, Ikeda K, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Kumada H.	Highly sensitive AFP-L3% assay is useful for predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after curative treatment pre- and postoperatively.	Hepatology Res	41 (11)	1036-1045	2011
Arase Y, Suzuki F, Kawamura Y, Suzuki Y, Kobayashi M, Matsumoto N, Akuta N, Sezaki H, Hosaka T, Ogawa K, Imai N, Seko Y, Saito S, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H.	Development rate of chronic kidney disease in hepatitis C virus patients with advanced fibrosis after interferon therapy.	Hepatology Res	41 (10)	946-954	2011
Imai N, Ikeda K, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Saitoh S, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Kumada H.	Previous chemoembolization response after transcatheter arterial chemoembolization (TACE) can predict the anti-tumor effect of subsequent TACE with miriplatin in patients with recurrent hepatocellular carcinoma.	Oncology	80 (3-4)	188-194	2011

Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Sezaki H, <u>Suzuki Y</u> , Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H.	Amino acid substitutions in hepatitis C virus core region predict hepatocarcinogenesis following eradication of HCV RNA by antiviral therapy.	J Med Virol	83 (6)	1016-1022	2011
Ikeda K, Kobayashi M, Kawamura Y, Imai N, Seko Y, Hirakawa M, Hosaka T, Sezaki H, Akuta N, Saitoh S, Suzuki F, <u>Suzuki Y</u> , Arase Y, Kumada H.	Stage progression of small hepatocellular carcinoma after radical therapy: comparisons of radiofrequency ablation and surgery using the Markov model.	Liver Int	31 (5)	692-629	2011
Arase Y, Suzuki F, Kobayashi M, <u>Suzuki Y</u> , Kawamura Y, Matsumoto N, Akuta N, Imai N, Kobayashi M, Sezaki H, Saito S, Hosaka T, Ikeda K, Kumada H, Ohmoto Y, Amakawa K, Tsuji H, Hsieh SD, Kobayashi T.	Efficacy and safety in sitagliptin therapy for diabetes complicated by chronic liver disease caused by hepatitis C virus.	Hepato Res	41 (6)	524-529	2011
Arase Y, Suzuki F, Kobayashi M, <u>Suzuki Y</u> , Kawamura Y, Matsumoto N, Akuta N, Kobayashi M, Sezaki H, Saito S, Hosaka T, Ikeda K, Kumada H, Ohmoto Y, Amakawa K, Tsuji H, Hsieh SD, Kato K, Tanabe M, Ogawa K, Hara S, Kobayashi T.	The development of chronic kidney disease in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease.	Intern Med	50 (10)	1081-1087	2011
Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Sezaki H, <u>Suzuki Y</u> , Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Chayama K, Nakamura Y, Kumada H.	Amino acid substitution in HCV core/NS5A region and genetic variation near IL28B gene affect treatment efficacy to interferon plus ribavirin combination therapy.	Intervirology	55 (3)	231-241	2012
Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Sezaki H, <u>Suzuki Y</u> , Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S,	Amino acid substitution in HCV core region and genetic variation near the IL28B gene affect viral dynamics during telaprevir, peginterferon and ribavirin treatment.	Intervirology	55 (6)	417-425	2012

Arase Y, Ikeda K, Chayama K, Nakamura Y, Kumada H.					
Kawamura Y, Arase Y, Ikeda K, Seko Y, Imai N, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Sezaki H, Akuta N, Suzuki F, <u>Suzuki Y</u> , Ohmoto Y, Amakawa K, Tsuji H, Kumada H.	Large-Scale Long-Term Follow-Up Study of Japanese Patients With Non-Alcoholic Fatty Liver Disease for the Onset of Hepatocellular Carcinoma.	Am J Gastroenterol	107 (2)	253-261	2012
鈴木義之, 瀬崎ひとみ, 芥田憲夫, 鈴木文孝, 今井則博, 平川美晴, 川村祐介, 保坂哲也, 小林正宏, 斎藤聡, 荒瀬康司, 池田健次, 小林万利子, 熊田博光	NS5A 阻害剤と NS3 プロテアーゼ阻 害剤併用投与における早期抗ウイル ス効果	肝臓	52 (2)	147-149	2011
保坂哲也, 鈴木文孝, 小林正宏, 瀬古裕也, 今井則博, 平川美晴, 川村祐介, 瀬崎ひとみ, 芥田憲夫, 鈴木義之, 斎藤 聡, 荒瀬康司, 池田健次, 小林万利子, 熊田博光	B 型慢性肝疾患に対する核酸アナロ グ療法による HBs 抗原消失とその関 連因子の検討	肝臓	52 (4)	255-257	2011
小林万利子, 鈴木文孝, 鈴木義之, 芥田憲夫, 瀬崎ひとみ, 川村祐介, 瀬古裕也, 保坂哲也, 小林正宏, 斎藤聡, 荒瀬康司, 池田健次, 熊田博光	コバス TaqManHBV「オート」v2.0 に おける同一時の血清検体と血漿検体 の HBVDNA 検出率の検討	肝臓	52 (11)	756-757	2011
Fujimaki S, Matsuda Y, Wakai T, Sanpei A, Kubota M, Takamura M, Yamagiwa S, Yano M, Ohkoshi S, <u>Aoyagi Y</u> .	Blockade of ataxia telangiectasia mutated sensitizes hepatoma cell lines to sorafenib by interfering with Akt signaling.	Cancer Lett	319 (1)	98-108	2012
Kamimura H, Yamagiwa S, Tsuchiya A, Takamura M, Matsuda Y, Ohkoshi S, Inoue M, Wakai T, Shirai Y, Nomoto M, <u>Aoyagi Y</u> .	Reduced NKG2D ligand expression in hepatocellular carcinoma correlates with early recurrence.	J Hepatol	56	381-388	2012
Iwasaki T, Kawai H, Oseki K, Togashi T, Shioji K, Yamamoto S, Sato Y, Suzuki K, Toba K, Nomoto M, Hatakeyama K, <u>Aoyagi Y</u> .	Japanese case of Budd-Chiari syndrome due to hepatic vein thrombosis successfully treated with liver transplantation.	Hepatol Res	42	213-218	2012