

Fig. 3 Alteration of serum total bilirubin concentration (T-Bil) after the start of treatment with UDCA.

The data are expressed as the means with SEM. Numbers in the parentheses indicate those of patients investigated.

—●—: all patients

—○—: the patients whose serum T-Bil concentrations were higher than 1.2 mg/dL

M: month, Y: year, *: $P < 0.05$ by Wilcoxon signed rank test.

よび T-Bil 改善例の生存率は、非改善例と比較して有意に高かった(それぞれ $p < 0.0001$, $p = 0.0014$)。しかし、Al-P, γ -GTP, ALT については、生存率において改善例、非改善例の間に有意差はみられなかった。Log-rank 検定により有意に 5 年生存率に関連することが示された因子すなわち、臨床区分(症候性、無症候性)、組織学的病期 (Scheuer 分類)、投与前 T-Bil 値および投与開始後 6 カ月の時点での AST, T-Bil 低下率について Cox 回帰分析による多変量解析を行ったところ、統計学的に有意となった因子は、影響の大きいものから順に投与前 T-Bil 値(1.2 mg/dl 超)(ハザード比: 25.0, $p = 0.0002$)、組織学的病期 (Scheuer 分類 III, IV) (6.6, $p = 0.0117$)、T-Bil 低下率(30% 未満) (6.5, $p = 0.0293$)、AST 低下率 (30% 未満) (4.4, $p = 0.0447$) となった (Table 8)。

全死亡での 3 年および 5 年生存率の推定値 \pm SE はそれぞれ $97.8 \pm 0.4\%$ および $96.2 \pm 0.6\%$ であった。一般集団の死亡数を基準とした本調査での標準化死亡比は 3 年時点で 0.87 (95% CI : 0.57~1.27), 5 年時点で 0.76 (0.54~1.04) であり、一般集団よりも低い値となったが、統計学的に有意ではなかった。

考 察

本調査は、日常の使用実態下において、PBC 患者に対して UDCA 製剤を長期使用した場合における安全性、

有効性を調査することを目的として実施した。

調査対象症例の背景では男女比、年齢分布、臨床型、組織学的進展度において厚生労働科学研究費補助金(難治性肝疾患克服事業) 難治性肝胆道疾患に関する調査研究班の研究報告書(平成 19 年度)と大きな差は認められなかった³⁰⁾。また、UDCA 製剤の 1 日投与量においては 600 mg/日未満は 6.2% と少なく、大部分の症例で 600 mg/日以上 UDCA が投与されていた。併存する自己免疫疾患あるいは膠原病は班研究報告書と同様にシェーグレン症候群(7.5%)が最も多く、つづいて、慢性甲状腺炎(7.0%)、慢性関節リウマチ(3.7%)、強皮症(3.1%)であった。自己免疫性肝炎(AIH)の併存は 45 例(3.1%)にみられた。しかし、PBC に併存する AIH の診断には我が国においも国際的にも共通の基準はない³¹⁾。長期 UDCA 服用の安全性と有効性を目的とした本調査ではどのような基準で AIH の診断がなされたかの記載はなく、実態は不明といわざるを得ない。

UDCA 製剤服用に起因する有害事象の頻度をみるために、UDCA 製剤服用との関連が否定できない有害事象として集計された有害事象のうち関連確実あるいは関連可能性が高いと判定された有害事象を選びその頻度をみたところ、3.4% と低頻度であり、また、重篤な有害事象には UDCA と関連が推定されたものはみられなかった。最も高頻度に認められた UDCA 製剤と関連が推定された有害事象は下痢、ついでそう痒、発疹で

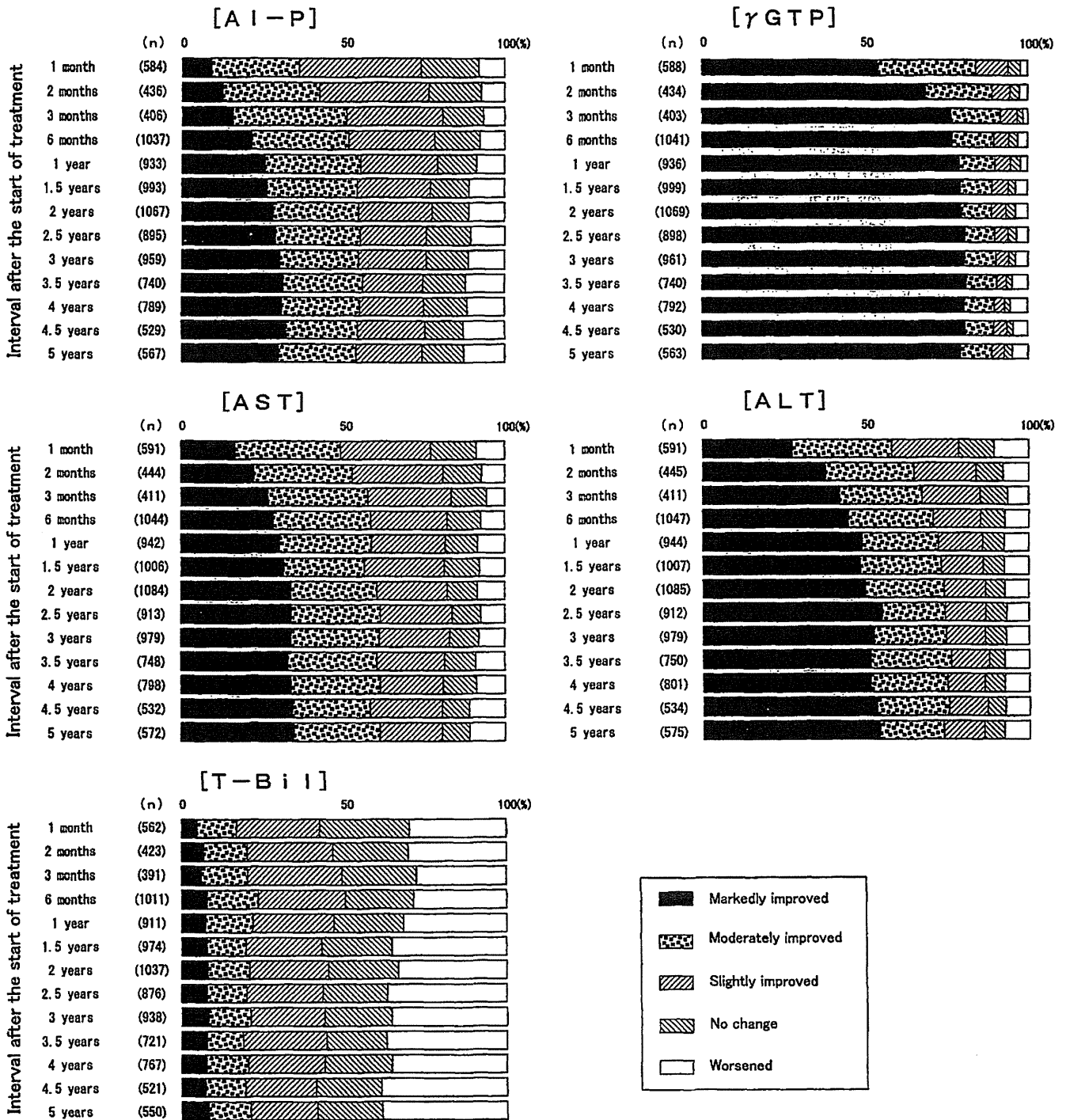


Fig. 4 Evaluation of the effect of UDCA treatment on serum enzyme activities and total bilirubin concentration (T-Bil).

Changes of serum enzyme activities and T-Bil concentration are expressed in % change from their baseline levels and classified as follows; $-50\% \geq$ "Markedly improved", $-30\% \geq > -50\%$ "Moderately improved", $-10\% \geq > -30\%$ "Slightly improved", $-10\% > > 10\%$ "No change", $\geq 10\%$ "Worsened". In each month or year of investigation, the patients belonging to each of the classes were expressed as % of the total patients. The time trend of proportion of patients with "Markedly improved" or "Moderately improved" was tested by Cochran-Armitage Trend test.

Alkaline phosphatase (Al-P): $p < 0.0001$, γ GTP: $p = 0.0705$, AST: $p < 0.0001$, ALT: $p < 0.0001$, T-Bil: $p = 0.9492$

Table 4 Evaluation of biochemical responses at the final visit

Liver function test	Markedly improved n (%)	Moderately improved n (%)	Slightly improved n (%)	No change n (%)	Worsened n (%)	Total	Markedly or moderately improved n (%)
Al-P	375 (28.5)	330 (25.1)	268 (20.4)	190 (14.5)	151 (11.5)	1314	705 (53.7)
γ -GTP	1016 (76.8)	137 (10.4)	62 (4.7)	41 (3.1)	67 (5.1)	1323	1153 (87.2)
AST	428 (32.3)	339 (25.5)	273 (20.6)	132 (9.9)	155 (11.7)	1327	767 (57.8)
ALT	672 (50.6)	277 (20.9)	168 (12.7)	91 (6.9)	119 (9.0)	1327	949 (71.5)
T-Bil	109 (8.3)	161 (12.3)	287 (21.9)	249 (19.0)	506 (38.6)	1312	270 (20.6)

Al-P: alkaline phosphatase

T-Bil: serum total bilirubin concentration

Table 5 Daily dose of UDCA and biochemical responses at the final visit

Liver function test	Maximum daily dose	Number of patients (%)	Markedly or moderately improved n (%)	Slightly improved or not improved n (%)	P value*
Al-P	< 600 mg	83	24 (28.9)	59 (71.1)	< 0.0001
	600 mg \leq < 900 mg	1116	600 (53.8)	516 (46.2)	
	900 mg \leq	115	81 (70.4)	34 (29.6)	
γ -GTP	< 600mg	83	60 (72.3)	23 (27.7)	0.0001
	600 mg \leq < 900 mg	1125	989 (87.9)	136 (12.1)	
	900 mg \leq	115	104 (90.4)	11 (9.6)	
AST	< 600 mg	83	38 (45.8)	45 (54.2)	0.0003
	600 mg \leq < 900 mg	1127	645 (57.2)	482 (42.8)	
	900 mg \leq	117	84 (71.8)	33 (28.2)	
ALT	< 600 mg	83	53 (63.9)	30 (36.1)	0.0165
	600 mg \leq < 900 mg	1127	803 (71.3)	324 (28.7)	
	900 mg \leq	117	93 (79.5)	24 (20.5)	
T-Bil	< 600 mg	82	9 (11.0)	73 (89.0)	0.0001
	600 mg \leq < 900 mg	1114	222 (19.9)	892 (80.1)	
	900 mg \leq	116	39 (33.6)	77 (66.4)	

*: Cochran-Armitage Trend test

Al-P: alkaline phosphatase

T-Bil: serum total bilirubin concentration

あったが、これらは UDCA 製剤の副作用として以前より知られており、既に添付文書に記載され注意喚起がなされている。いずれも重篤なものではなく、UDCA 製剤を PBC 患者に長期使用した場合の安全性について特段の問題はないと考えられた。

PBC に起因する自覚症状に対する UDCA 投与の影響については、UDCA 投与により皮膚そう痒感が改善したとの報告もあるが¹⁴⁾、否定的な報告もあり¹⁵⁾²²⁾³²⁾、一定の見解は得られていないものの、本調査で得られた成績では、UDCA 製剤の長期投与後に皮膚そう痒感および全身倦怠感が軽減・改善する傾向が認められた。

UDCA 服用の肝機能検査に対する効果については、我が国におけるプラセボ投与を対照にした二重盲検無作為比較試験では投与開始ほぼ 1 カ月の時点で UDCA 投与群では投与前値と比較して、肝胆道障害の指標である AST, ALT, Al-P, γ -GTP は有意の低下を示し、6 カ月間持続した¹⁶⁾。一方、プラセボ投与群では投与開始後も有意の低下がみられなかった。しかし、この二重盲検無作為比較試験は 6 カ月という短期間であり、より長期の投与の効果は不明であった。本調査は対照群を設けずに、投与開始後 5 年間にわたって、Al-P, γ -GTP, AST, ALT, T-Bil の投与前値からの変化率を追

Table 6 Pruritus and general malaise at the final visit

At the start of treatment		[n]	At the final visit [n (%)]					
			Without symptom	With symptom			Unknown or in blank	
				Mild	Moderate	Severe		
Pruritus	Without symptom	1057	1009 (95.5)	37 (3.5)	9 (0.9)	1 (0.1)	1	
	With symptom	Mild	204	137 (67.2)	58 (28.4)	7 (3.4)	1 (0.5)	1
		Moderate	50	25 (50.0)	21 (42.0)	3 (6.0)	1 (2.0)	0
		Severe	14	7 (50.0)	4 (28.6)	2 (14.3)	1 (7.1)	0
	Unknown or in blank	1	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	
Total		1326	1179 (88.9)	120 (9.0)	21 (1.6)	4 (0.3)	2	
General malaise	Without symptom	1135	1098 (96.7)	24 (2.1)	5 (0.4)	6 (0.5)	2	
	With symptom	Mild	151	111 (73.5)	32 (21.2)	4 (2.6)	4 (2.6)	0
		Moderate	34	21 (61.8)	7 (20.6)	2 (5.9)	4 (11.8)	0
		Severe	5	3 (60.0)	0 (0.0)	1 (20.0)	1 (20.0)	0
	Unknown or in blank	1	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	
Total		1326	1234 (93.1)	63 (4.8)	12 (0.9)	15 (1.1)	2	

Table 7 Cause of death

	Cause of death	Number of death
Related to liver	Hepatic failure	14
	Hepatocellular carcinoma	3
	Bleeding from esophageal varices	1
	Unknown	1
	Subtotal	19
Not related to liver	Gallbladder cancer	2
	Gastric cancer	2
	Colon carcinoma	1
	Acute respiratory distress syndrome	1
	Myocardial infarction	2
	Cardio-respiratory arrest	1
	Cardiovascular disorder	1
	Cerebral haemorrhage	1
	Exacerbation of pulmonary hypertension	1
	Pneumonia	2
	Atypical mycobacteriosis	1
	MRSA infection	1
	Death by fire	1
	Unknown	3
Subtotal	20	
Total	39	

跡した (Fig. 2, Fig. 3). Al-P, γ -GTP, AST, ALT, T-Bil はいずれも投与開始後 1 カ月で有意の低下を示し、その低下は 5 年間の投与期間中持続し、また投与前値

が基準値上限を超えた症例も同様の経過を示し、PBC 患者における UDCA 製剤の長期持続的な肝胆道障害に対する改善効果が示された。

投与前値と比較して30%以上の低下を示す症例の比率(改善率)をみると, Al-P, γ -GTP, AST, ALT いずれにおいても投与期間とともに漸増したが, 低下がみられない不変症例, 悪化症例も存在した(Fig. 4). T-Bil についても, 投与前値が基準値上限を超えた症例でみた場合, 同様に改善率は投与期間とともに漸増し

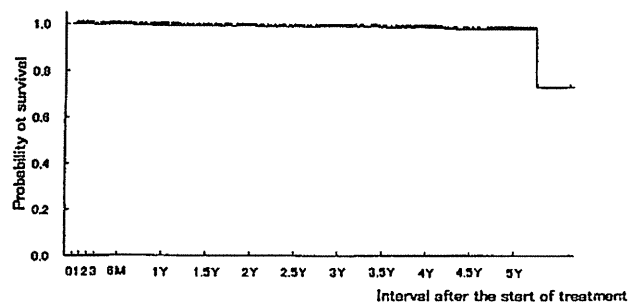


Fig. 5 Kaplan-Meier estimates of survival of patients treated with UDCA. Patients who received liver transplantation or died of liver disease were considered to be death cases. M: month, Y: year.

たが, 不変症例, 悪化症例がみられた. すなわち, 各肝機能検査において, UDCA 製剤投与にもかかわらず改善をみない症例が存在することを示している. しかし, 改善度に対する UDCA 投与量の効果をみると, 投与量の増加とともに改善率は上昇し, 一方, 軽度改善/不変/悪化例(低下率30%未満症例)の比率は減少し(Table 5), UDCA 製剤投与にもかかわらず肝機能検査の改善をみない原因として投与量の不足も関わっている可能性を示している. 600 mg/日以上投与では Al-P, γ -GTP, AST, ALT いずれにおいても著明改善/改善例は軽度改善/不変/悪化例を上回っていたが, T-Bil においては後者が前者を上回っていた. この原因は調査対象の88.1%が有意の変動を示さない T-Bil 1.2 mg/dl 以下の基準値内の症例であったことによるものであり, 必ずしも UDCA 投与が T-Bil に対する改善効果がないことを示すものではないと考えられる.

次に背景因子, UDCA 投与後の各肝機能検査の動きがどのような臨床的意義を持っているかを, 予後との関連について検討した. 死亡例を肝関連死あるいは肝

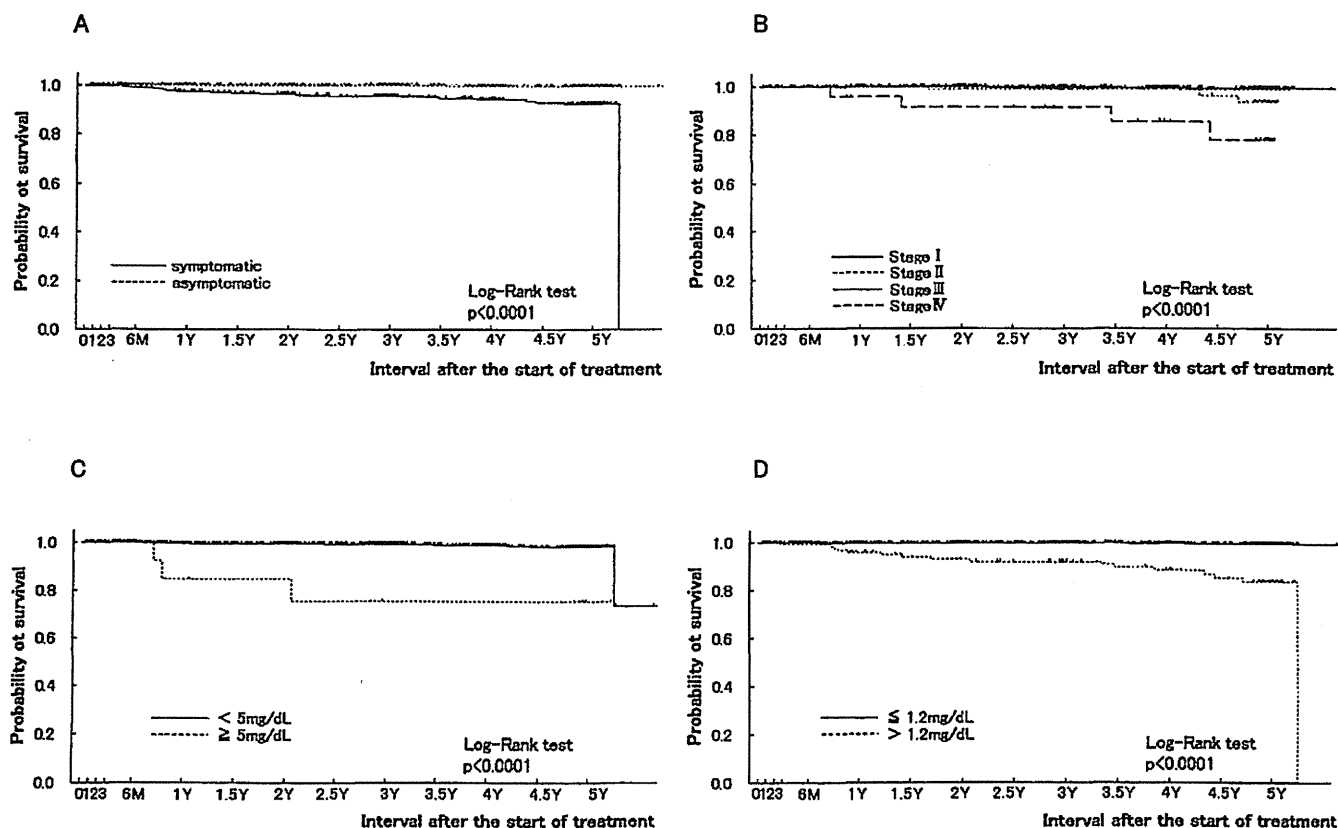


Fig. 6 Kaplan-Meier estimates of survival according to stratification on the basis of clinical classification (Panel A), histological stage (Panel B) and serum total bilirubin concentration (Panel C, D) at the start of UDCA treatment. Patients who received liver transplantation or died of liver disease were considered to be death cases. M: month, Y: year.

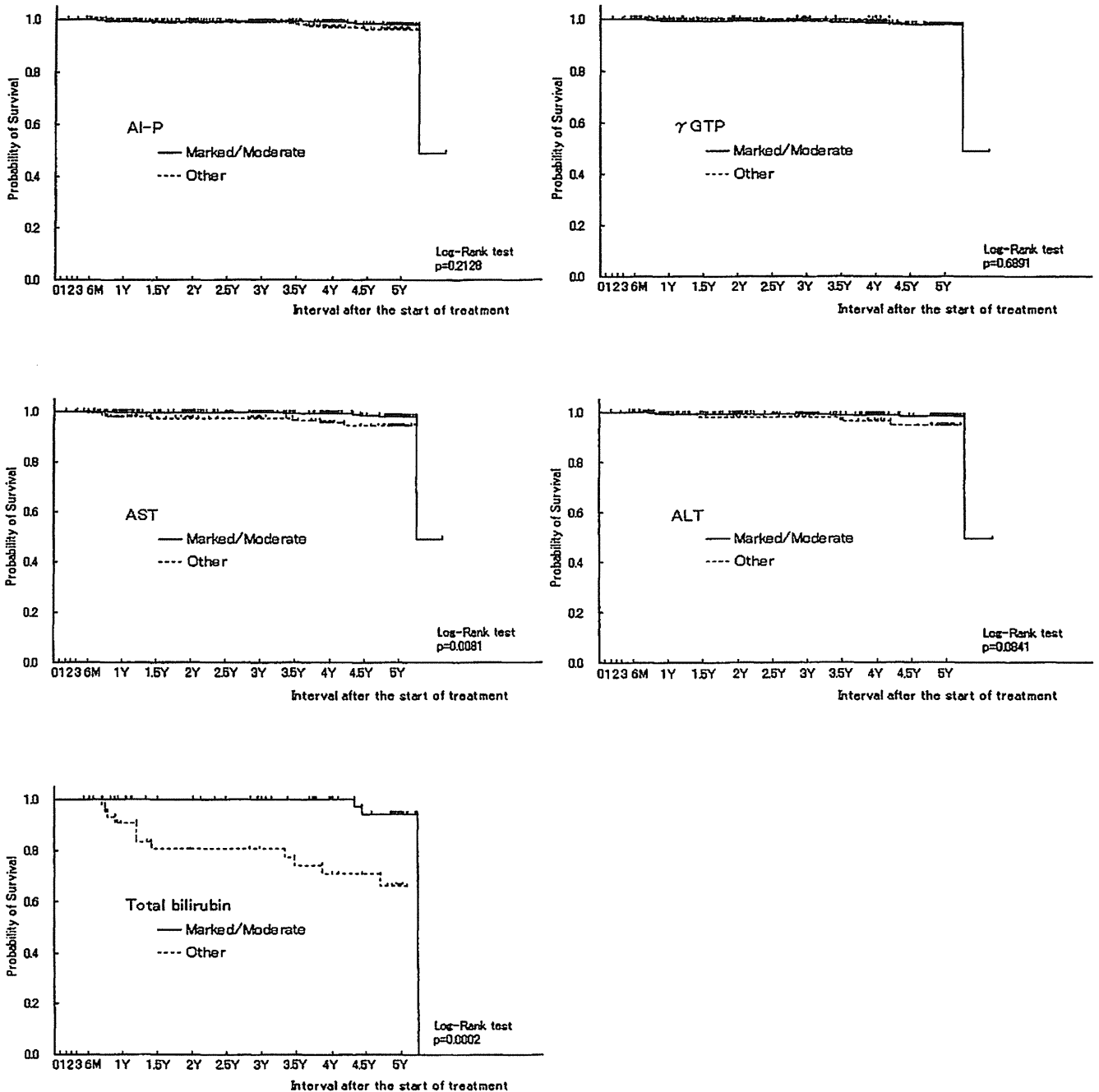


Fig. 7 Kaplan-Meier estimates of survival according to the biochemical responses to UDCA treatment. Survival probabilities were compared by Log-rank test between the patients in whom serum enzyme activities and total bilirubin concentration declined by 30% or more of their baseline levels (Marked/Moderate) and those in whom they were not (Other) at 6 months after the start of UDCA treatment. Patients who received liver transplantation or died of liver diseases were considered to be death cases. M: month, Y: year, Al-P: alkaline phosphatase.

移植例とした場合の背景因子別生存率の比較では、背景因子としての臨床区分(症候性、無症候性)、組織学的病期 (Scheuer 分類)、投与前 T-Bil が生存率と密接な関連を有していたが(Fig. 6)、投与開始後6カ月の時点でAST, T-Bilの低下が30%以上の症例は30%未満の症例と比較して有意に生存率が高く、UDCA投与後

のAST, T-Bilの低下の程度も予後と関連していた(Fig. 7)。Cox 回帰分析では、これらのうち影響の大きいものから順に、投与前 T-Bil、組織学的病期 (Scheuer 分類)、投与開始後6カ月時点でのT-Bil、ASTの低下率が生存率と有意の関連を示すことが明らかとなった (Table 8)。UDCA に対する肝機能検査上の反応が予後

Table 8 Multivariate analysis of predictors for liver-related death or liver transplantation in UDCA-treated patients

Characteristic	Hazard Ratio	95% Confidence Interval	P value*
Symptomatic PBC	4.8	0.9 ~ 25.3	0.0676
Histological stage III or IV	6.6	1.5 ~ 28.5	0.0117
Baseline T-Bil > 1.2 mg/dL	25.0	4.5 ~ 138.6	0.0002
Decrease in T-Bil < 30% at 6 months after the start of UDCA treatment	6.5	1.2 ~ 34.9	0.0293
Decrease in AST < 30% at 6 months after the start of UDCA treatment	4.4	1.0 ~ 19.1	0.0447

*: Cox regression

T-Bil: serum total bilirubin concentration

と関連することを報告した研究は既にいくつかある^{33)~35)}。Pares らは使用開始 1 年後の時点での ALP の低下率³³⁾、Corpechot らは UDCA 使用開始後 1 年の時点での基準値上限を基準にした ALP、AST、T-Bil レベル³⁴⁾、Kuiper らは T-Bil あるいはアルブミンのいずれか又は両者の正常化が予後改善に関連すると報告している³⁵⁾。我が国では、Azemoto らは UDCA 投与開始 6 カ月の時点における γ -GTP の正常化、投与前値と基準値上限との差を基準にした γ -GTP の低下率が予後改善予測因子となると報告している³⁶⁾。

死亡例の死因としては、難治性の肝胆道疾患に関する研究平成 19 年度総括分担研究報告書における原発性胆汁性肝硬変全国調査と同様、肝不全が最も多かった³⁰⁾。UDCA の予後改善効果については、ヨーロッパ、北米から既に多くの報告がある^{19)33)~35)37)~39)}。しかし、meta-analysis, systematic review では予後改善効果について否定的な報告もある^{21)~23)}。この理由としては、Poupon は用量が有効量に達していない症例、観察期間が短い症例が含まれているためであるとしている⁴⁰⁾。我が国には UDCA の予後に対する効果を検討した controlled study はないが、予後改善を示唆する調査研究はある。難治性の肝疾患に関する研究平成 14 年度総括分担研究報告書によれば、1989 年以前に診断された軽度黄疸例 (T-Bil 2~5 mg/dL)、組織学的分類 Stage I, II 群において logistic 回帰分析による多変量解析から UDCA 使用の有無が門脈圧亢進症 (腹水、消化管出血) とともに予後因子として選択されており、このことは UDCA 使用が予後改善に関わっていることを示唆している⁴¹⁾。

本調査で対象とした UDCA 製剤使用例の全死亡での 3 年および 5 年生存率は、それぞれ 97.8% および 96.2% であった。一般集団の死亡数を基準とした解析では、本調査における標準化死亡比は 3 年時点で 0.87 (95%CI

0.57~1.57)、5 年時点で 0.76 (0.54~1.04) であった。これは、一般集団よりも死亡率が少ない、または生存率が長いと解釈できる。ただし、95%CI からは統計学的に有意な差があるとはいえない。UDCA を服用している PBC 患者の予後 (生存率) を一般集団と比較した報告はいくつかある。Corpechot らは肝移植なしの生存率は一般集団と比較してわずかに低かったと報告しているが、その差は有意とは言えない ($p=0.1$)²⁰⁾。Poupon らは非硬変期の患者での生存率はフランスの一般集団と差はみられなかったと報告している³⁸⁾。また、Kuiper らは初期 PBC 患者の予後はオランダの一般集団と同等であったと報告している³⁵⁾。スペインの Pares らも使用開始 1 年後の時点で ALP が使用前のレベルから 40% 超低下した症例の生存率はスペインの標準生存率と同等であったと報告している³³⁾。これらの報告は UDCA 服用に予後改善効果があることを示唆していると考えられる。

結 語

PBC 患者を UDCA 製剤服用開始後 5 年間にわたって観察したが、UDCA 製剤と関連が推定された有害事象は低頻度であり、重篤なものはなく、長期使用が可能な薬剤と考えられた。皮膚そう痒感および全身倦怠感の改善もみられ、また、肝機能検査の改善も調査期間中持続し、また、UDCA 服用者の生存率は我が国の一般集団と差はみられず、UDCA 製剤は PBC の病態改善に有効な薬物と考えられた。また、各肝機能検査において UDCA 用量増加とともに改善率は上昇したことから、十分な改善のみみられない症例では UDCA 用量増加を考慮してもよいと考えられる。UDCA 製剤投与にも関わらず、肝線維化の進展した症例は肝線維化軽度の症例と比較して、また T-Bil 異常値例は正常例と比較し

て予後は悪く、新たな薬剤の開発が待たれる。本研究では投与開始後6カ月の時点での T-Bil, AST の改善度が予後に関わることを示したが、T-Bil, AST の十分な改善の得られない患者では UDCA 製剤の増量あるいは bezafibrate の併用を試みるなど改善度向上を目指した対応も必要と考えられた⁴²⁾。

謝辞：本調査にあたりウルソ-PBC 特別調査研究会の世話人として参画していただいた故井上恭一先生(元関西西大第三内科教授)、故各務伸一先生(元愛知医科大学名誉教授)、故小林健一先生(元金沢大学大学院消化器内科教授)に厚く御礼申し上げます。また、本調査にご協力いただいた医療機関の関係各位に深謝いたします。

文 献

- 1) Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, et al. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009; 50: 291—308
- 2) 廣原淳子. 原発性胆汁性肝硬変 全国調査(第29報). 「厚生労働科学研究費補助金(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平成20年度 総括・分担研究報告書(研究代表者坪内博仁)」p53—55
- 3) 戸田剛太郎, 他. 原発性胆汁性肝硬変診断基準の改訂について. *肝臓* 2005; 46: 232—233
- 4) Scheuer P. Primary biliary cirrhosis. *Proc R Soc Med* 1967; 60: 1257—1260
- 5) Mitchinson HC, Bassendine MF, Record CO. Controlled trial of prednisolone for primary biliary cirrhosis: good for the liver, bad for the bone. *Hepatology* 1986; 6: 1211
- 6) Christensen E, Neuberger J, Crowe J, et al. Beneficial effect of azathioprine and prediction of prognosis in primary biliary cirrhosis. Final results of an international trial. *Gastroenterology* 1985; 89: 1084—1091
- 7) Hoofnagle JH, Davis GL, Schafer DF, et al. Randomized trial of chlorambucil for primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1986; 91: 1327—1334
- 8) Wiesner RH, Ludwig J, Lindor KD, et al. A controlled trial of cyclosporine in the treatment of primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 1990; 322: 1419—1424
- 9) Dickson ER, Fleming TR, Wiesner RH, et al. Trial of penicillamine in advanced primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 1985; 312: 1011—1015
- 10) 市田隆文, 他. 原発性胆汁性肝硬変に対する D-penicillamine 投与—多施設間低用量長期投与のまとめ—. *肝胆膵* 1991; 23: 135—141
- 11) Kaplan MM, Alling DW, Zimmerman HJ, et al. A prospective trial of colchicine for primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 1986; 315: 1448—1454
- 12) Warnes TW, Smith A, Lee FI, et al. A controlled trial of colchicine in primary biliary cirrhosis. Trial design and preliminary report. *J Hepatol* 1987; 5: 1—7
- 13) Poupon R, Chretien Y, Poupon RE, et al. Is ursodeoxycholic acid an effective treatment for primary biliary cirrhosis? *Lancet* 1987; 1 (8537): 834—836
- 14) Poupon RE, Balkau B, Eschwege E, et al. A multicenter, controlled trial of ursodiol for the treatment of primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 1991; 324: 1548—1554
- 15) Heathcote EJ, Cauch-Dudek K, Walker V, et al. The Canadian multicenter double-blind randomized controlled trial of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1994; 19: 1149—1156
- 16) Oka H, Toda G, Ikeda Y, et al. A multi-center double-blind controlled trial of ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis. *Gastroenterol Jpn* 1990; 25: 774—780
- 17) Corpechot C, Carrat F, Bonnand AM, et al. The effect of ursodeoxycholic acid therapy on liver fibrosis progression in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2000; 32: 1196—1199
- 18) Angulo P, Batts KP, Therneau TM, et al. Long-term ursodeoxycholic acid delays histological progression in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1999; 29: 644—647
- 19) Poupon RE, Lindor KD, Cauch-Dudek K, et al. Combined analysis of randomized controlled trials of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1997; 113: 884—890
- 20) Corpechot C, Carrat F, Bahr A, et al. The effect of ursodeoxycholic acid therapy on the natural course of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 2005; 128: 297—303
- 21) Goulis J, Leandro G, Burroughs AK, et al. Randomized controlled trials of ursodeoxycholic-acid therapy for primary biliary cirrhosis: a meta-analysis. *Lancet* 1999; 354: 1053—1060
- 22) Glud C, Christensen E. Ursodeoxycholic acid for

- primary biliary cirrhosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; 1: CD000551
- 23) Gong Y, Huang Z, Christensen E, et al. Ursodeoxycholic acid for patients with primary biliary cirrhosis: an updated systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials using Bayesian approach as sensitivity analyses. *Amer J Gastroenterol* 2007; 102: 1799—1807
- 24) 吉岡正智, 他. Ursodeoxycholic acid の利胆作用に関する臨床的研究. 診断と治療 1976 ; 64 : 1953—1963
- 25) 早川富博, 他. N-pyridoxyl-5-methyltryptophan 胆道シンチグラフィに及ぼすウルソデオキシコール酸の影響—慢性肝疾患を中心として—. *日本消化器病学会雑誌* 1988 ; 85 : 2389—2395
- 26) Igimi H, Asakawa S, Watanabe D, et al. Liquid crystal formation in ursodeoxycholate-rich human gallbladder bile. *Gastroenterologia Japonica* 1983; 18: 93—97
- 27) 戸田剛太郎, 他. 原発性胆汁性肝硬変患者に対するウルソデオキシコール酸 (UR-PBC) の長期投与試験. *医学と薬学* 1999 ; 41 : 609—633
- 28) 金井 泉, 金井正光. 「臨床検査提要(改訂 31 版)」金原出版, 東京, 2002, p581—664
- 29) 厚生労働省. 人口動態調査(2000~2008 年) <http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/81-1.html>
- 30) 廣原淳子. 原発性胆汁性肝硬変 全国調査 (第 28 報). 「厚生労働科学研究費補助金(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平成 19 年度 総括・分担研究報告書(主任研究者 大西三朗)」p33—40
- 31) Boberg KM, Chapman RW, Hirschfield GM, et al. Overlap syndromes: The International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG) position statement on a controversial issue. *J Hepatol* 2011; 54: 374—385
- 32) Lindor KD, Dickson ER, Baldus WP, et al. Ursodeoxycholic acid in the treatment of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1994; 106: 1284—1290
- 33) Pares A, Caballeria L, Rodes J. Excellent long-term survival in patients with primary biliary cirrhosis and biochemical response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology* 2006; 130: 715—720
- 34) Corpechot C, Abenavoli L, Rabahi N, et al. Biochemical response to ursodeoxycholic acid and long-term prognosis in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2008; 48: 871—877
- 35) Kuiper EM, Hansen BE, de Vruess RA, et al. Improved prognosis of patients with primary biliary cirrhosis that have a biochemical response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology* 2009; 136: 1281—1287
- 36) Azemoto N, Kumagi T, Abe M, et al. Biochemical response to ursodeoxycholic acid predicts long-term outcome in Japanese patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res* 2011; 41: 310—317
- 37) Lindor KD, Therneau TM, Jorgensen RA, et al. Effects of ursodeoxycholic acid on survival in patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1996; 110: 1515—1518
- 38) Poupon RE, Bonnand AM, Chretien Y, et al. Ten-year survival in ursodeoxycholic acid-treated patients with primary biliary cirrhosis. The UDCA-PBC Study Group. *Hepatology* 1999; 29: 1668—1671
- 39) Ter Borg PC, Schalm SW, Hansen BE, et al. Prognosis of ursodeoxycholic acid-treated patients with primary biliary cirrhosis. Results of a 10-yr cohort study involving 297 patients. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2044—2050
- 40) Poupon R. Primary biliary cirrhosis: a 2010 update. *J Hepatol* 2010; 52: 745—758
- 41) 廣原淳子. 原発性胆汁性肝硬変 全国調査 (第 23 報). 「厚生労働科学研究費補助金 特定疾患克服研究事業 難治性の肝疾患に関する研究 平成 14 年度 総括・分担研究報告書(主任研究者 戸田剛太郎)」p55—59
- 42) Iwasaki S, Ohira H, Nishiguchi S, et al. The efficacy of ursodeoxycholic acid and bezafibrate combination therapy for primary biliary cirrhosis. A prospective study. *Hepatol Res* 2008; 38: 557—564

Prolonged treatment with ursodeoxycholic acid of patients with primary biliary cirrhosis and their clinical course

—Study Group for Urso-PBC Special Survey—

Gotaro Toda¹⁾*, Hiromi Ishibashi²⁾, Saburo Onishi³⁾, Takeshi Okanoue⁴⁾, Morikazu Onji⁵⁾, Makoto Kako⁶⁾,
Shuichi Kaneko⁷⁾, Tomoteru Kamimura⁸⁾, Hironaka Kawasaki⁹⁾, Michio Sata¹⁰⁾,
Kazuyuki Suzuki¹¹⁾, Naomi Tanaka¹²⁾, Naoaki Hayashi¹³⁾, Isao Makino¹⁴⁾, Sumio Watanabe¹⁵⁾

The safety and efficacy of treatment with ursodeoxycholic acid (UDCA) of the patients with primary biliary cirrhosis (PBC) were investigated by following 1462 and 1327 patients, respectively, for 3 to 5 years after the start of treatment. No serious adverse events related to UDCA treatment occurred in the patients investigated and the start of treatment induced the significant fall of serum alkaline phosphatase (Al-P), γ GTP, AST, ALT and total bilirubin concentration (T-Bil), which was sustained throughout the investigation period, indicating that the prolonged UDCA treatment was safe and effective in the improvement of liver function tests. In the final visit, however, little or no improvement of Al-P, γ GTP, AST, ALT and T-Bil was noticed in some of the patients treated. The stratification of the patients according to the daily dose of UDCA revealed that, in each of the liver function tests, the frequency of those who showed little or no improvement decreased with the increase in the dose, suggesting that the increase in the dose improved the liver function tests in these patients. Twenty three patients died of liver-related causes or received liver transplantation. Multivariate Cox regression analysis indicated that the base line T-Bil greater than 1.2 mg/dl, advanced histological stage and decrease less than 30% of base line level in T-Bil or AST at 6 months after the start of treatment were the predictors for liver-related death or liver transplantation. The response of T-Bil or AST to UDCA treatment is useful to identify the patients who need additional treatment for improvement of prognosis.

Key words: primary biliary cirrhosis (PBC) ursodeoxycholic acid (UDCA)
predictor of prognosis chronic intrahepatic cholestasis drug effect

Kanzo 2011; 52: 584—601

- 1) Sempo Tokyo Takanawa Hospital
- 2) Clinical Research Center and Clinical Laboratory, National Hospital Organization Nagasaki Medical Center
- 3) Kubokawa Hospital
- 4) Division of Gastroenterology, Saiseikai Suita Hospital
- 5) Department of Gastroenterology and Metabology, Ehime University Graduate School of Medicine
- 6) Gastroenterology Medicine Center, Shonan Kamakura General Hospital
- 7) Department of Gastroenterology, Kanazawa University Hospital
- 8) Department of Gastroenterology, Saiseikai Niigata Second Hospital
- 9) Sanin Rosai Hospital
- 10) Division of Gastroenterology, Kurume University School of Medicine
- 11) Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, Iwate Medical University
- 12) Division of Gastroenterology, Koyama Memorial Hospital
- 13) Makino Care Center
- 14) Megumino Hospital
- 15) Department of Gastroenterology, Juntendo University

*Corresponding author: gtoda@tb3.so-net.ne.jp

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

中村 稔^{*,**} 石橋大海^{*,**}

KEY WORDS

遺伝子多型, SNP, GWAS, PBC, PSC

SUMMARY

自己免疫性肝胆道疾患の代表である原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の発症には、家族集積性や双生児による研究から遺伝的素因の関与が示唆されていたが、候補遺伝子法および網羅的遺伝子解析 (ゲノムワイド関連解析: GWAS) により、①HLA や CTLA4 の遺伝子多型のほかに、②インターロイキン (IL) 12/IL12R シグナル伝達、③NF- κ B シグナル伝達、④TLR-TNF α シグナル伝達の重要性が明らかとなった。原発性硬化性胆管炎 (PSC) においても、PSC に特異的な遺伝子多型に加えて、潰瘍性大腸炎 (UC) と共通する遺伝子多型が疾患感受性遺伝子として同定された。今後は、治療反応性や転帰、病理学的活動性、自己抗体の産生プロフィールなど、病態による分類にもとづく GWAS により、これら自己免疫性肝胆道疾患の病態の理解が飛躍的に深まることが期待される。

はじめに

近年、ヒトゲノム全域にわたる膨大な多様性情報の集積と数十万~百万種の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) を一度に多数の検体が解析できるプラットフォームの開発により、ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study: GWAS) が可能となったが、2007年にこのプラットフォームが市販化されて以来、さまざまな疾患において多数の疾患感受性遺伝子が同定されてきた。自己免疫性肝胆道疾患においても2009年に原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis: PBC) を対象としたはじめてのGWASの成果がカナダから報告され、PBC発症と関連する新たな疾患感受性遺伝子 [interleukin (IL) 12A, IL12 receptor beta 2 (IL12RB2), signal transducer and activator of transcription (STAT) 4] が同定された¹⁾。その後、イタリア、カナダ、イギリスからメタアナリシスを含めたGWASの報告があいつぎ、PBCの新たな疾患関連遺伝子多型の情報が集積されるとともに、遺伝子多型からみたPBCの病態の理解が進んでいる^{2)~4)}。

* NAKAMURA Minoru, ISHIBASHI Hiromi/国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター、**長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻肝臓病学講座

表① 候補遺伝子法により PBC の病態形成との関連が報告されている遺伝子

遺伝子	発症	進行	自己抗体産生	再現性	文献
HLA	○	○	○	yes	7)~10)
CTLA4	○	○	○	yes	11)~15)
TNF- α	○	○	—	?	16)
VDR	○	—	—	?	17), 18)
SLC4A2	○	○	○	?	19), 20)
MDR3	—	○	—	?	21)
インテグリン α V	—	○	—	?	22)

本稿では、GWAS が可能となる以前に用いられた候補遺伝子法による遺伝子多型解析の成果と最新の GWAS の解析結果を PBC を中心に紹介し、自己免疫性肝胆道疾患における遺伝子多型解析の意義と今後の展望について概説する。

■ PBC の発症には家族集積性や双生児による研究から強い遺伝的素因の関与が示唆されていた

PBC は中年女性に好発する肝内小葉間胆管を標的とした慢性の肝疾患で、初期には無症状のことが多いが、進行すると全身の掻痒感、食道静脈瘤、腹水、黄疸、脳症が出現して肝不全に至り、最終的には肝臓移植以外に救命方法がない難治性疾患である。ミトコンドリアや核成分に対するさまざまな自己抗体（抗ミトコンドリア抗体、抗 gp210 抗体、抗セントロメア抗体、抗 sp100 抗体など）が出現することや、門脈域にリンパ球の浸潤を認めることから、小葉間胆管を標的とする自己免疫疾患と考えられている。家族集積性のあること（患者同胞の発症危険率 10.5）や一卵性双生児における concordance rate が 60% ときわめて高いこと、また PBC 患者ではほかの自己免疫疾患の合併率が高いことなどから、PBC の発症には強い遺伝的素因の関与が示唆されていたが、その詳細についてはヒトゲノム全域の膨大な多様性情報の集積 [Haplotype Map (HapMap) 計画] と GWAS 技術の開発までは明らかにすることはできなかった⁵⁾⁶⁾。

■ 候補遺伝子法による遺伝子多型解析では HLA と CTLA4 との相関が人種差を超えて確認された

PBC の発症や進行、自己抗体産生に関連した遺伝的素因を明らかにするために、候補遺伝子法による一塩基多型の解析が 1990 年代からおこなわれてきた。しかし、初期の解析では対象とした症例数が不十分な報告が多く、また HapMap などによるヒトゲノムの多様性情報がなかったために、複数の TagSNP を用いた系統的関連解析は不可能であった。表①に、PBC の病態（発症、進行、自己抗体産生）との関連が最近報告された SNP を示すが、このなかで比較的よく検討されていて再現性が人種差を超えて確認されているのは、今のところ human leukocyte antigen (HLA) と cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA4) のみにすぎない。

HLA の遺伝子多型に関しては、欧米の白人では HLA-DRB1*0801 と PBC の発症との関連が、日本人では DRB1*0803 と PBC の発症との関連が以前から報告されていたが、イギリスやイタリアのグループ、わが国の国立病院機構の多施設共同研究からも、これらの HLA と PBC 発症との関連が最近確認された。また、DRB1*13 と DRB1*11 が PBC 発症には protective にはたらくことも人種差を超えて確認され、この 2 つのハプロタイプを有していることが 1 つのハプロタイプのみ有している人にくらべて PBC を発症する危険性が低いこと (dose effect) も報告されている^{7)~10)}。HLA-A, B, C については、HLA-DR, -DP, -DQ ほど詳細に解析されておらず、

今後の解析の余地が残されている。

CTLA4 は、T 細胞の活性化を負に制御する免疫調節分子として、さまざまな自己免疫疾患への関与が注目されてきたが、PBC においてもその発症との関連が報告された¹¹⁾。その後、CTLA4 の遺伝子多型と PBC の発症との関連に否定的な報告も散見されたが、Juran らが報告した rs231725 SNP は、最近日本人 PBC 患者でも再現性が確認され、CTLA4 の遺伝子多型は人種を越えて PBC の発症や進行、自己抗体産生に関連している可能性が高いと思われる^{12)~15)}。また、tumor necrosis factor- α (TNF α) 遺伝子多型が CTLA4 の遺伝子多型との相互作用により PBC の発症リスクを高める “gene-gene interaction” も報告されている¹⁶⁾。

その他には、ビタミン D 受容体 (VDR) と PBC の発症¹⁷⁾¹⁸⁾、SLC4A2 と PBC の発症、進行、自己抗体産生¹⁵⁾¹⁹⁾²⁰⁾、multi-drug resistance 3 (MDR3) やインテグリン α V と PBC の黄疸への進行²¹⁾²²⁾ との関連、また、IL1, IL10, apoprotein E, mannose-binding lectin (MBL), endothelial nitric oxide synthase (eNOS), chemokine receptor 5 (CCR5), cytochrome P450 2E2 (CYP2E2), programmed cell death 1 (PDCD1), keratin, ataxin 2-binding protein 1 (A2BP1), endocannabinoid receptor など多くの遺伝子多型と PBC との関連が報告されているが、これらの遺伝子多型については replication に関する報告はほとんどなく、再検討の余地が残されている。さらには、これらの候補遺伝子が GWAS によって有意な候補遺伝子領域として同定されるか否かが、再現性の問題を含めてきわめて重要な意味をもつと思われるが、GWAS で $p < 10^{-5}$ の有意性で同定されたのは、現在までに上記候補遺伝子のうち、HLA と CTLA4 のみにすぎない^{1)~4)}。

GWAS による遺伝子多型解析からは HLA のほかに IL12/IL12R シグナル伝達、NF κ B シグナル伝達、TLR-TNF α シグナル伝達の 3 つの経路の重要性が明らかとなった (表 2)

2009 年に PBC を対象としたはじめての GWAS が、

カナダのグループから *The New England Journal of Medicine* 誌に発表された¹⁾。PBC 患者 536 人とコントロール 1,536 人を対象として 300,000 以上の SNP を解析した結果、最も PBC 発症と強い関連の認められたのは HLA クラス II 領域 (染色体 6p21.3) のなかの HLA-DQB1 [オッズ比 (OR) : 1.75, $p = 1.78 \times 10^{-19}$] であった。HLA 領域には、HLA-DQB1 以外にも C6orf10, HLA-DPB1, butyrophilin-like 2 (BTNL2) など PBC の発症と有意に関連している遺伝子多型 (OR : 1.4-2.8, $p < 3 \times 10^{-7}$) が 13 locus 同定された。非 HLA 領域では、発症と関連する疾患感受性遺伝子 12 locus が同定されたが、そのなかで IL12A (OR : 1.54, $p = 2.42 \times 10^{-14}$) と IL12RB2 (OR : 1.51, $p = 2.76 \times 10^{-11}$) が最も有意差が強く、STAT4 (OR : 1.65, $p = 4.67 \times 10^{-5}$), CTLA4 (OR : 1.39, $p = 1.41 \times 10^{-5}$), interferon (IFN) regulatory factor-transportin [IRF-TNPO (OR : 1.52, $p = 1.52 \times 10^{-7}$)] も有意差を示した。IL12/IL12R によるシグナル伝達は IFN γ の産生を誘導し、IFN γ は IL23 による IL17 産生ヘルパー T (Th17) 細胞の誘導に関与していること、STAT4 は IL12/IL12R のシグナル伝達下流の重要な分子であること、また STAT4 の遺伝子多型は関節リウマチ (rheumatoid arthritis : RA), 全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus : SLE), I 型糖尿病などの自己免疫疾患発症との関連が報告されていることなどから、IL12 シグナル伝達に関連した免疫制御系の遺伝的多型が PBC の発症と関連していることが示唆された。

その後カナダの同じグループから、前回の GWAS で $p < 1 \times 10^{-4}$ であった遺伝子について、ヨーロッパと北米の症例を加えて解析した結果、新たに IRF-TNPO3 (OR : 1.57, $p = 8.66 \times 10^{-13}$), 17q12-21 (zona pellucida binding protein 2 : ZPBP2) (OR : 0.72, $p = 3.50 \times 10^{-13}$), membrane metallo-endopeptidase-like 1 [MMEL1 (OR : 1.33, $p = 3.15 \times 10^{-8}$)] が 2010 年に PBC の疾患感受性遺伝子として *Nature Genetics* 誌に発表された²⁾。また、2010 年の同月号の *Nature Genetics* 誌に発表されたイタリアのグループの解析結果は、カナダから発表された IL12 と IL12RB2 の PBC 発症への関連を replication するとともに、新たに SPIB (OR : 1.46, $p = 7.9 \times 10^{-11}$), IRF-TNPO3 (OR : 1.63, $p = 2.8 \times 10^{-10}$), 17q12-

表② GWAS によって報告された PBC 発症に関連した SNP

遺伝子名	染色体領域	関連した機能	報告されたコホート研究			今までに関連が報告されている疾患
			Canada*	Italy-Canada** (メタアナリシス)	UK***	
HLA-DQB1	6p21.3	抗原提示	○	○	○	多くの自己免疫性疾患
IL12A	3q25.33-q26	IL12 シグナル伝達, Th1 細胞への分化	○	○	○	セリアック病,
IL12RB2/ SCHIP1	1p31.2	IL12 シグナル伝達, Th1 細胞への分化	○	○	○	乾癬, CD, UC, 強直性 脊椎炎
STAT4	2q32	IL12 シグナル伝達, Th1 細胞への分化	○	○	○	RA, SLE
CTLA4	2q33	T リンパ球の活性化の負の制御	○			Type I DM, 自己免疫性 甲状腺炎, RA
IRF5/TNPO3	7q32.1	TLR-IFN シグナル伝達	○	○	○	SLE, RA, SSc, SjS
IKZF3	17q12-21	アポトーシス, B リンパ球の分化	○	○		気管支喘息, CD, type I DM, UC
ZPBP2	17q12-21	未知		○		気管支喘息, CD, type I DM, UC
GSDMB	17q12-21	上皮細胞の分化, アポトーシス		○		気管支喘息, CD, type I DM, UC
ORMDL3	17q12-21	内因性炎症惹起物質		○	○	
MMEL1	1p36	メタロプロテアーゼ		○	○	RA, セリアック病, MS
SPIB	19q13	B リンパ球受容体シグナル伝達, 分化 制御		○	○	
DENND1B	1q31	TNF α シグナルの負の制御		○	○	小児喘息, CD
CDGAP	11q21	リンパ球の分化増殖		○		
CD80	3q13	T リンパ球の制御			○	セリアック病, MS
IL7R	5p13	T リンパ球の活性化			○	MS
CXCR5	11q23	リンパ球の遊走, 接着			○	
TNFRSF1A	12p13	NF κ B-TNF α シグナル伝達, アポトー シス			○	MS
CLEC16A	16p13	未知			○	MS, RA, CD, Type I DM, セリアック病
NF κ B1	4q24	NF κ B シグナル伝達			○	
RAD51L1	14q24	DNA 修復			○	
MAP3K7IP1	22q13	IL1/TLR-NF κ B シグナル伝達			○	
PLCL2	3p24	BCR シグナルの負の制御			○	
RPS6KA4	11q13	NF κ B-TNF α シグナル伝達			○	
TNFAIP2	14q32	TNF α シグナル伝達			○	RA

CD: クローン病, UC: 潰瘍性大腸炎, RA: 関節リウマチ, SSc: 全身性硬化症, SLE: 全身性エリテマトーデス, SjS: Sjögren 症候群, Type I DM: I 型糖尿病, MS: 多発性硬化症

[文献1)*, 2)**, 3)**, 4)**より作成]

21 (IKAROS family zinc finger 3 : IKZF3) (OR : 1.38, $p=1.7 \times 10^{-10}$) を PBC の疾患感受性遺伝子として同定したものであった³⁾。IRF-TNPO3 は SLE, 全身性硬化症 (systemic sclerosis : SSc), Sjögren 症候群 (Sjögren syndrome : SjS) の発症との関連が, 17q12-21 は気管支喘息, クロウン病 (Crohn's disease : CD), I 型糖尿病との関連が, MMEL1 は RA やセリアック病との関連が, また SPIB は B 細胞受容体からのシグナル伝達や T 細胞の分化などに関与していることから, PBC においてもこれらの自己免疫疾患と共通した免疫関連分子の遺伝子多型が発症に関連していることが示唆された。

2011 年には, イギリスのグループから 1,840 人の PBC 患者と 5,163 人の Wellcome Trust Case-Control Consortium (WTCCC) のコントロールを対象とした 507,467 SNP の GWAS の結果が発表された⁴⁾。それまでに報告されていた有意な遺伝子多型の多くが replication されるとともに, 新たに PBC 発症に関連する 10 以上の遺伝子多型が同定された。これらのなかで, nuclear factor κ B (NF κ B) の活性化に関連した遺伝子座として 4q24 (NF κ B1), 22q13 (transforming growth factor β -activated kinase 1 binding protein 1 : TAB1), 12p13 (TNF receptor superfamily member 1A : TNFRSF1A), 3q13 (CD80), 11q13 (ribosomal protein S6 kinase, 90 kDa, polypeptide 4 : RPS6KA4) が, TLR-TNF α シグナル伝達に関連した遺伝子座として 11q13 (RPS6KA4), 12p13 (TNFRSF1A), 1q31 (DENN/MADD domain containing 1B : DENND1B), 14q32 (TNF α -induced protein 2 : TNFAIP2) が同定された。これらの知見は, IL12/IL12R によるシグナル伝達に加えて, 新たに NF κ B シグナル伝達と TLR-TNF α シグナル伝達系に関する遺伝子多型が PBC 発症と関連していることを示唆している。

自己免疫性肝炎 (AIH) と硬化性胆管炎 (PSC) の遺伝子多型の解析についても特異的な遺伝子多型が示唆されている

自己免疫性肝炎 (autoimmune hepatitis : AIH) に関しては, 欧米白人では HLA-DRB1*0301 との関連が, 日本

人では DR1*0405 との関連がよく知られているがその他では, TNF α , Fas, VDR の遺伝子多型と AIH の関連の報告があるにすぎない。いまだ, GWAS の報告もなく今後の検討が必要と思われる。

硬化性胆管炎 (primary sclerosing cholangitis : PSC) においては, 候補遺伝子法により遺伝子多型の解析がおこなわれ, HLA-DRB3*0101, HLA-C, TNF α , MICA*002 などの HLA-B-TNF α 領域 (染色体 6p21.3) の遺伝子多型と PSC 発症との関連や, matrix metalloproteinase (MMP)-3 の遺伝子多型と PSC 進行, intercellular adhesion molecule (ICAM)-1, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) と PSC 発症との関連が報告されていた。最近, ノルウェーのグループから GWAS の結果がはじめて報告され, HLA-B (6p21) に PSC 発症と最も強い関連 (rs3099844 : OR : 4.8, $p=2.6 \times 10^{-26}$) が同定され, 非 HLA 領域では 13q31 (glypican 6 : GPC6), 2q35 (G protein-coupled bile acid receptor 1 : GPBAR1), 3p21 (macrophage stimulating 1 : MST1), 2q13 (B-cell lymphoma-like 11 : BCL2L11) が疾患感受性遺伝子として同定された²³⁾²⁴⁾。また, PSC に潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis : UC) の合併頻度が高いことから, UC で同定されている疾患感受性遺伝子の検討から, v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog (avian) (REL), IL2/IL21, caspase recruitment domain family, member 9 (CARD9) が新たな PSC の疾患感受性遺伝子として同定されている²⁵⁾。

おわりに

これまでの自己免疫性肝胆道疾患における遺伝子多型の解析からは, いまだ臨床に应用が可能なほど相対危険度の高い SNP は見出されていない。PBC における候補遺伝子法による解析から, ①HLA や CTLA4 の遺伝子多型が人種を越えて PBC の病態と関連していることが示唆され, GWAS の報告からは, HLA のほかに, ②IL12/IL12R シグナル伝達, ③NF κ B シグナル伝達, ④TLR-TNF α シグナル伝達の 3 つの経路の重要性が明らかとなった。また, これらの HLA やシグナル伝達関連分子の多くは, ほかの自己免疫疾患の発症との関連が報告さ

れている遺伝子多型と重複しており、PBCの発症が免疫関連分子の遺伝的素因の影響を受けていることが示唆される。PSCにおいても、PSCに特異的な遺伝子多型に加えて、UCや多発性硬化症と共通する遺伝子多型が疾患感受性遺伝子として同定されており、病因を考えるうえできわめて重要な知見と思われる。

今後は日本人の患者を対象としたGWAS解析を実施し、日本人の疾患関連遺伝子多型を同定する必要があるとともに、すでに欧米で報告されている遺伝子領域に日本人でも有意なSNPが同定されるか否か、人種差を超えた再現性の検証をおこなう必要がある。

すでに、Tanakaらは、欧米のPBC-GWASで報告されたIL12A, IL12RB2, SPIB, IRF5-TNPO3, 17q12-21の遺伝子多型を日本人で検討し、IL12A, IL12RB2 SNPには再現性を認めなかったが、17q12-21領域に存在するgasdermin B (GSDMB)とIKZF3にPBC発症と関連するSNPを同定している²⁶⁾。今後は、PBC, AIH, PSCの発症だけでなく、治療反応性や転帰、病理学的活動性、自己抗体の産生プロフィールなど、病態による分類にもとづくGWASにより、これら自己免疫性肝胆道疾患の病態の理解が飛躍的に深まるものと期待される。



文 献

- 1) Hirschfield GM, Liu X, Xu C *et al* : Primary biliary cirrhosis associated with *HLA*, *IL12A*, and *IL12RB2* variants. *N Engl J Med* **360** : 2544-2555, 2009
- 2) Hirschfield GM, Liu X, Han Y *et al* : Variants at *IRF5-TNPO3*, *17q12-21* and *MMEL1* are associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet* **42** : 655-657, 2010
- 3) Liu X, Invernizzi P, Lu Y *et al* : Genome-wide meta-analyses identify three loci associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet* **42** : 658-660, 2010
- 4) Mells GF, Floyd JAB, Morley KI *et al* : Genome-wide association study identifies 12 new susceptibility loci for primary biliary cirrhosis. *Nat Genet* **43** : 329-332, 2011
- 5) Juran BD, Lazaridis KN : Update on the genetics and genomics of PBC. *J Autoimmun* **35** : 181-187, 2010
- 6) Selmi C, Torok NJ, Affronti A *et al* : Genomic variants associated with primary biliary cirrhosis. *Genome Med* **2** : 5, 2010
- 7) Donaldson PT, Baragiotta A, Heneghan MA *et al* : HLA class II alleles, genotypes, haplotypes, and amino acids in primary biliary cirrhosis : a large-scale study. *Hepatology* **44** : 667-674, 2006
- 8) Onishi S, Sakamaki T, Maeda T *et al* : DNA typing of HLA class II genes ; DRB1*0803 increases the susceptibility of Japanese to primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* **21** : 1053-1060, 1994
- 9) Invernizzi P, Selmi C, Poli F *et al* : Human leukocyte antigen polymorphisms in Italian primary biliary cirrhosis : a multi-center study of 664 patients and 1992 healthy controls. *Hepatology* **48** : 1906-1912, 2008
- 10) Nakamura M, Yasunami M, Kondo H *et al* : Analysis of *HLA-DRB1* polymorphisms in Japanese patients with primary biliary cirrhosis (PBC) : the *HLA-DRB1* polymorphism determines the relative risk of anti-nuclear antibodies for disease progression in PBC. *Hepatol Res* **40** : 494-504, 2010
- 11) Agarwal K, Jones DE, Daly AK *et al* : CTLA-4 gene polymorphism confers susceptibility to primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* **32** : 538-541, 2000
- 12) Juran BD, Atkinson EJ, Schlicht EM *et al* : Interacting alleles of the coinhibitory immunoreceptor genes cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 and programmed cell-death 1 influence risk and features of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* **47** : 563-570, 2008
- 13) Juran BD, Atkinson EJ, Schlicht EM *et al* : Primary biliary cirrhosis is associated with a genetic variant in the 3' flanking region of the CTLA4 gene. *Gastroenterology* **135** : 1200-1206, 2008
- 14) Joshita S, Umemura T, Yoshizawa K *et al* : Association analysis of cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene polymorphisms with primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *J Hepatol* **53** : 537-541, 2010
- 15) Aiba Y, Nakamura M, Joshita S *et al* : Genetic polymorphisms in CTLA4 and SLC4A2 are differentially associated with the pathogenesis of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *J Gastroenterol* 2011 [in press]
- 16) Juran BD, Atkinson EJ, Larson JJ *et al* : Carriage of a tumor necrosis factor polymorphism amplifies the cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 attributed risk of primary biliary cirrhosis : evidence for a gene-gene interaction. *Hepatology* **52** : 223-229, 2010
- 17) Vogel A, Strassburg CP, Manns MP : Genetic association of vitamin D receptor polymorphisms with primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *Hepatology* **35** : 126-131, 2002

- 18) Tanaka A, Nezu S, Uegaki S *et al* : Vitamin D receptor polymorphisms are associated with increased susceptibility to primary biliary cirrhosis in Japanese and Italian populations. *J Hepatol* **50** : 1202-1209, 2009
- 19) Poupon R, Ping C, Chrétien Y *et al* : Genetic factors of susceptibility and of severity in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* **49** : 1038-1045, 2008
- 20) Juran BD, Atkinson EJ, Larson JJ *et al* : Common genetic variation and haplotypes of the anion exchanger SLC4A2 in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* **104** : 1406-1411, 2009
- 21) Ohishi Y, Nakamura M, Iio N *et al* : Single-nucleotide polymorphism analysis of the multidrug resistance protein 3 gene for the detection of clinical progression in Japanese patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* **48** : 853-862, 2008
- 22) Inamine T, Nakamura M, Kawauchi A *et al* : A polymorphism in the integrin αV subunit gene affects the progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *J Gastroenterol* **46** : 676-686, 2010
- 23) Karlsen TH, Franke A, Melum E *et al* : Genome-wide association analysis in primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* **138** : 1102-1111, 2010
- 24) Melum E, Franke A, Schramm C *et al* : Genome-wide association analysis in primary sclerosing cholangitis identifies two non-HLA susceptibility loci. *Nat Genet* **43** : 17-19, 2011
- 25) Janse M, Lamberts LE, Franke L *et al* : Three ulcerative colitis susceptibility loci are associated with primary sclerosing cholangitis and indicate a role for *IL2*, *REL* and *CARD9*. *Hepatology* **53** : 1977-1985, 2011
- 26) Tanaka A, Invernizzi P, Ohira H *et al* : Replicated association of 17q12-21 with susceptibility of primary biliary cirrhosis in a Japanese cohort. *Tissue Antigens* **78** : 65-68, 2011

なかむら・みのる

中村 稔 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻肝臓病学講座 教授

1979年 九州大学医学部卒。九州大学医学部第一内科（病態修復内科学）の助手，講師などを経て，2004年より現職。専門は臨床免疫学。研究テーマは原発性胆汁性肝硬変の病因解析，進展・予後に関与する因子の解析。

2. 核膜孔複合体

核膜孔複合体タンパク質 Gp210

中 村 稔 相 葉 佳 洋

核膜孔に存在する核膜孔複合体(nuclear pore complex ; NPC)は、ヌクレオポリン(NP)と総称される約 30 種類のタンパク質によって構成される一つのユニットが、8 ユニット回転対称性に配置した 100MDa の巨大なタンパク質複合体である。そのなかで核膜孔複合体タンパク質 Gp210 は膜貫通型ヌクレオポリンに属し、他の二つの膜貫通型ヌクレオポリン(POM121, NDC1)とともに、核膜孔複合体の核膜へのアンカーの働きをしていると考えられている。本稿では、Gp210 の構造、機能について今までに報告されている主な知見を紹介するとともに、難治性の自己免疫性肝疾患である原発性胆汁性肝硬変との関連についてわれわれの知見を紹介する。

●Gp210 タンパク質の構造

ヒトの核膜孔複合体タンパク質 Gp210 は 1887 アミノ酸よりなる分子量 21000 の 1 回膜貫通型の糖タンパク質で、N 末端側は核膜腔に、C 末端は細胞質側に位置する。核膜腔に存在する N 末端は 1808 個のアミノ酸からなり、多数の糖鎖結合領域が存在する。一方、細胞質側に位置する C 末端は 60 個のアミノ酸からなり 6 個のリン酸化部位を有するが、糖鎖結合部位は存在しない(図)。Gp210 はホモダイマーやオリゴマーを形成して存在すると考えられ、Gp210 のホモログは Amoebozoa, 植物, Chromalveolates, Excavates などでも同定されており、またアラインメント解析によりヒト、マウス、ラットの一次構造の配列が高い相同性を有することから、Gp210 タンパクの機能は進化の過程で保存されてきたものと考えられる。

●Gp210 遺伝子の発現と制御機構

ヒト Gp210 遺伝子は染色体 3p25.1 領域に 102 kbp の長さで存在し、40 個のエクソンよりなる。*in silico* におけるゲノム解析から、転写開始部位やプロモーター領域に存在する Sp1 や Pfu などの転写因子結合部位が同定されている。Gp210 遺伝子の発現はマウス胚幹細胞や一部の上皮系細胞に認められるが、多くの組織や細胞株ではほとんど発現が認められない。したがって、Gp210 の発現には細胞や組織特異的な制御機構があるものと推測されるが、その詳細はいまだ明らかではない。

●Gp210 の核膜孔複合体形成における役割

核膜孔複合体の形成における Gp210 の役割に関して、今までに多くの精力的な研究がなされている。Gp210 が同定された当初は、核膜に核膜孔複合体のコア構造をアンカーする役割や、Gp210 の構造がウイルスの膜融合タンパクと類似していることから、核膜内膜と外膜の膜融合に関与することを介して、核膜孔複合体の形成に重要な役割を果たしていると考えられていた。HeLa 細胞や線虫において Gp210 をノックダウンすると生存率低下や核膜孔複合体の分布や構造に異常が認められたとの報告は、この仮説を支持するものである。また、Gp210 C 末端は左巻きポリプロリン II 型ヘリックス構造をとることから、他の核膜孔複合体構成成分と相互作用して核膜孔複合体の形成に関与していると推測されている。Gp210 C 末端のリン酸化部位であるセリン(1881S)をアラニンにアミノ酸置換すると Gp210 の核膜孔複合体への蓄積が減少することや、Gp210 C 末端に対する抗体を *in vitro* の核膜形成時に添加すると核膜孔複合体の形成が阻害されることも報告されている。

しかし、その後、アフリカツメガエル卵抽出系、線虫、細胞株を用いた実験で Gp210 をノックダウンしても核膜複合体の形成に影響を及ぼさないという報告もあり、Gp210 は核膜孔複合体の形成に必須ではなく、POM121 と酵母 Ndc1p のオルソログである 6 回膜貫通型タンパク質である NDC1 が核膜孔複合体の形成に主に参与しているのではないかと推測されている。

●有糸分裂における Gp210 の動態と制御

有糸分裂では分裂初期に核膜が崩壊され、分裂後期から初期 G1 期にかけ再び核膜が構築される。これまでの報告から、Gp210 は有糸分裂前期に核から細胞質へ分散し、有糸分裂後期まで細胞質に局在した後、脱凝縮された染色体が出現する有糸分裂終期から核膜が再生される初期の G1 期にかけて娘細胞の核に移行することが示されている。したがって、Gp210 は核再構築の終期に核膜孔複合体形成に関与すると考えられている。

Gp210 の C 末端に位置するセリン(1881S)が有糸分裂においてのみリン酸化されることが明らかにされている。このリン酸化の意義は長らく不明であったが、線虫とアフリカツメガエル卵核抽出物を用いた実験により、有糸分裂期の核膜孔複合体崩壊に際し、核膜孔複合体の構造エレメントから Gp210 を解離するために機能していることが示されている。また、このリン酸化には、CyclinB-p34cdc2 プロテインキナーゼやその関連酵素が関与する。以上のことから、Gp210 は有糸分裂初期における核膜崩壊と有糸分裂後期における核再構築に重要であると推測される。

●Gp210 と原発性胆汁性肝硬変の関連

原発性胆汁性肝硬変は中年以降の女性に好発し、初期には無症状のことが多いが、進行すると肝硬変、黄疸、肝不全に至り、肝移植以外には救命方法がない肝臓の難病である。ミトコンドリアタンパク質や核膜タンパクなどに対する種々の自己抗体が出現するのが特徴で、肝内小型胆管を標

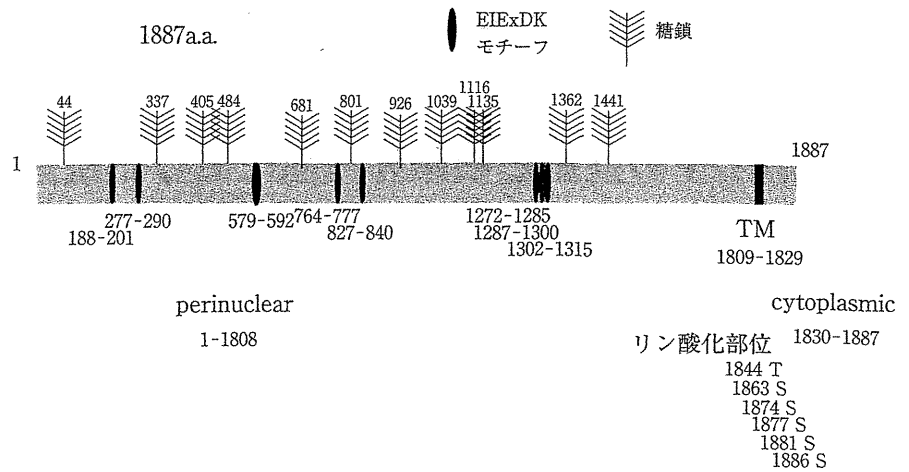


図 核膜孔複合体タンパク質 Gp210 の構造

的とした自己免疫疾患と考えられている。われわれは、原発性胆汁性肝硬変においてミトコンドリアタンパク質(PDC-E2)と反応する自己反応性 T リンパ球が認識するモチーフ (EIEXDK) が Gp210 タンパク質にも 8カ所存在することを見出し、Gp210 タンパク質と原発性胆汁性肝硬変との関連について研究を行っている(図)。今までに、Gp210 タンパク質の C 末端に対する自己抗体が原発性胆汁性肝硬変で極めて特異的に検出されること、この自己抗体が陽性の症例は、陰性の症例にくらべて重症例の多いこと(肝不全への進行の相対危険度：約 30-40 倍)、病変の主座(慢性非化膿性破壊性胆管炎)である肝内小型胆管上皮において Gp210 タンパク質の発現が増加していることを報告している。しかし、Gp210 タンパク質や同じ核膜構成成分である Nup62 や lamin B receptor に対する自己抗体がなぜ原発性胆汁性肝硬変において疾患特異的に出現するのかについては明らかではない。これらの疑問に答えるためには、今後は Gp210 タンパク質の発現・局在・分解のステップにおける免疫系との相互作用の解析などの新たな研究分野の展開が必要と思われる。

文 献

- 1) 米田悦啓・他(編)：蛋白質 核酸 酵素 51(増刊・細胞核の世界)：2006
- 2) 平岡泰・他(編)：実験医学 27(増刊・細胞核-遺伝情報制御と疾患)：2009
- 3) 中村 稔・他：肝胆膵 62：707-714, 2011
- 4) Galy V et al：J Cell Sci 121：317-328, 2008
- 5) Doucet C et al：Cell 141：1030-1041, 2010

原発性胆汁性肝硬変

石橋 大海
小森 敦正
下田 慎治

どのような病気なのでしょうか

▶原因は不明ですが、自己免疫という機序で肝臓の中の小さな胆管が破壊されるため、肝臓で産生され、胆管を通じて十二指腸へ排出されるべき胆汁が、肝臓内および血液中にうっ滞(停滞)し、全身の組織にビリルビンが沈着して黄疸が生じる病気です。

▶多くの場合、肝臓に炎症が生じ、放置して炎症が続けば肝硬変へと進展することもあります。

▶わが国では病初期で見つかることが多く、大部分(7~8割)は症状が出ることなく一生を終えます。

▶一部は炎症とうっ滞した胆汁により肝細胞が次第に破壊されて線維に置換され、徐々に肝硬変へと進行します。肝硬変に至ると肝臓の働きが低下して、黄疸が増強し、腹水貯留、意識障害(肝性脳症)を生じて肝不全という状態を呈します。食道静脈瘤もできます。

▶ウルソデオキシコール酸(UDCA)に病気の進展を遅らせる効果が認められており、治療薬として広く使用されています。

▶肝障害に伴う症候が出ている患者さんは、特定疾患として医療費の補助が受けられます。

中年女性に好発する慢性進行性の胆汁うっ滞性肝疾患である。病理組織学的に慢性非化膿性破壊性胆管炎(chronic non-suppurative destructive cholangitis : CNSDC)と肉芽腫の形成を特徴とし、胆管上皮細胞の変性・壊死によって小

葉間胆管が破壊・消滅することにより慢性進行性に胆汁うっ滞を呈する。炎症と胆汁うっ滞に伴い肝実質細胞の破壊と線維化を生じ、究極的には肝硬変から肝不全に至る。種々の免疫異常を呈し、血清学的に抗ミトコンドリア抗体(anti-mitochondrial antibody : AMA)が本疾患に特異的、かつ高頻度(90%以上)に出現することが特徴的である。門脈圧亢進症状が高頻度に出現する。発症の原因はまだ不明であるが、病因・病態進展の要因として自己免疫機序が考えられている。遺伝性疾患ではないが、家族内での集積例が報告されている。

どのような検査を受けるのでしょうか

▶血液検査で慢性の胆汁うっ滞所見(血液検査でアルカリホスファターゼ(ALP)、 γ -GTPやビリルビン値の高値)に加え、抗ミトコンドリア抗体(AMA)が陽性を呈し、腹部超音波検査やCT検査などの画像診断で閉塞性黄疸が否定されると診断されます。

▶細い針を肝臓に刺して組織を検査する肝生検を行うと、より正確な診断を行うことができ、加えて進行程度が判断できます。

わが国では厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患」調査研究班(2010年)による診断基準が用いられている。①肝組織においてCNSDCおよび肉芽腫などの特徴的所見が認められれば、診断は確実である。しかし、②組織学的にはCNSDCの所見を認めないが、原発性胆汁性肝