

カーによる網羅的な免疫組織化学染色を用い、経時的な胎児期腸管の発達を観察した。

2. HGの免疫組織学的評価

対象：対照となる正常腸管として、手術検体26例（日齢1日～10歳）、HG 24例（日齢1日～15歳；空腸13例、回腸8例、結腸3例）の全層生検ホルマリン固定パラフィン切片。

方法：HuC/D抗体を用いた免疫染色標本を作成し、切除腸管1cmあたりの筋層間神経叢におけるHuC/D陽性細胞を計数する。陽性細胞の計数方法は、Maya Swaminathanらの論文（Human Pathology, 41, 1097-1108, 2010年）に記載されている基準を用いた。各群の平均値比較は統計ソフト IBM SPSS Statistics ver. 21 を用い、t 検定を行った。

3. HG病理診断ガイドラインの作成

当研究班において小児外科医、病理医が討論し、全国調査の結果も踏まえて、HG病理診断ガイドラインの作成を行った。

（倫理面への配慮）

本研究における病理診断は、関連法規を遵守し、倫理委員会の承認を経た上で、検体提供者への人権擁護、個人情報保護に細心の注意を払って実施した。

C. 研究結果

1. 腸管神経叢の免疫組織化学的評価法の確立

胎生8週のアウエルバッハ神経叢内にはすでに神経節細胞とグリア細胞が分化しており、腸管壁の発達は、腸間膜側から対側に向かって神経叢内の神経細胞や固有筋層が分化・成熟していくことが分かった。また、アウエルバッハ神経叢内の神経節細胞数とグリア細胞数の比率は出生直前までは1:1だが、その後年齢と共に神経節細胞の比率が低下（グリア細胞の比率が増加）しており、神

経節細胞が成熟過程においてアポトーシスを起こしていることが示唆された。それぞれの細胞を同定するために有用な抗体としては神経節細胞にはHuC/D抗体、Phox2b抗体、グリア細胞にはSox10抗体、Sox2抗体が最も良好な染色性を有していた。これらに加えて、既に知られているCajal細胞を同定するCD117抗体、固有筋層を同定するSMA抗体を組み合わせることで同一組織内での二重ないし三重免疫組織化学染色が可能であることが分かった。また、Phox2b抗体は未熟な神経節細胞に優位な染色性を示す一方、tyrpsine hydroxylase (TH)抗体は成熟した神経節細胞に優位な染色性を示した。

2. HGの免疫組織学的評価

HG群では対照群と比較してHuC/D陽性細胞が有意に少なく、全例20個/cm未満であった。対照群の中に、HuC/D陽性細胞が20個/cm以下の症例が5例（臍腸管遺残1、メッケル憩室1、NEC1、鎖肛1、胎便性腹膜炎1）認められたが、その原因は明らかでなかった。

3. HG病理診断ガイドラインの作成

当研究班での検討の結果、下記のガイドライン（案）を作成した。

Isolated congenital hypoganglionosis (hypoganglionosis) の病理診断ガイドライン(案)

Hypoganglionosisは新生児期にイレウスとして発症することがほとんどであり、鑑別診断として小腸閉鎖、Hypoganglionosis、Hirschsprung病、Immaturity of gangliaが挙げられる。小腸閉鎖は術中所見で診断できるが、Hypoganglionosis、Hirschsprung病、Immaturity of gangliaの鑑別は術中所見、術中迅速診断では不可能な場合が多いため、常時対応可能な病理医がいる場合を除き術中迅速診断は行わない。

新生児イレウスで緊急開腹手術を行う場合には、Hypoganglionosisの病理診断を正確に行うために、腸管全層を観察できる十分な検体（目安としては1cm長）を採取する（下図参照）。全層生検の検体採取は、(1)caliber changeより十分口側小腸に人工肛門を造設し、全周（竹輪状）標本、(2)回腸末端、(3)S状結腸（もしくは横行結腸）で行う。標本は直ちに通常のホルマリン固定を行いパラフィン切片のHE染色による診断を原則とする。

(1)に正常サイズのplexusが存在しganglion cellも正常で、(2)(3)にganglion cellがない場合はHirschsprung病と診断される。この場合(3)には肥大神経線維束が存在する。

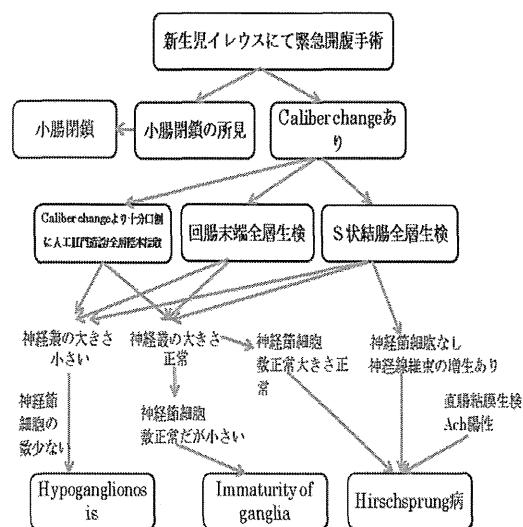
(1)(2)(3)に正常サイズのplexusが存在し、ganglion cellの数は正常だが大きさが小さく胞体が少ない場合はImmaturity of gangliaと診断される。Immaturity of gangliaでは、gangliaが小さく、神経節細胞も小型で細胞質が狭く、未熟である。

(1)(2)(3)ともganglion cellは存在するが少なく、大きさも小さい場合isolated congenital hypoganglionosisと診断される。Ganglion cellの数が極めて少ない場合はHirschsprung病の無神経節腸管との区別が難しい場合もある。Hypoganglionosisでは結腸のganglion cellは小腸よりもやや多いことが多く、また肥大神経線維束は欠如するので、診断の一助となる。

もし(1)(2)(3)に全くganglion cellがない場合は非常にまれであるがTotal intestinal aganglionosisとなる。

なおHypoganglionosisの病理診断には、HuC/D抗体を用いた免疫組織化学染色を行うと、ganglion cellが特異的に染色されるので、小型の未熟なganglion cellとSchwan細胞を区別するのに極めて有効である。Ganglion cellの数

を正確に数えることも可能である。



*Immaturity of gangliaについては、人工肛門切除時に神経叢、神経細胞に異常がないことを確認し、最終的に診断を確定する。

D. 考察

腸管壁内神経細胞が存在するにもかかわらず腸管蠕動不全を来たすHD類縁疾患の診断や分類に関して、いまだ一定のコンセンサスが得られていない。これはHD類縁疾患の希少性だけでなく、HD類縁疾患の病理学的診断はH.E染色やAchE染色による形態学的検討が主であり、診断の精度や再現性に問題があることが理由としてあげられる。近年、新たなアプローチとして免疫組織化学染色によるHD類縁疾患の病理学的診断・分類の試みが報告されるようになったが、HD類縁疾患の定義に利用されるまでには至っていない。また、HD類縁疾患の診断の対照となる年齢に応じた正常腸管神経叢の評価基準・方法が未確立であることも診断の難しさを助長していると思われる。

今回我々は、HD類縁疾患の免疫組織化学染色による病理学的検討を行うにあたり、胎児期から成人期にかけての正常回腸を用いて、腸管神経叢の経時的変化と、腸管蠕動に必要な要素である神経叢内の神経節細胞やグリア細胞、固

有筋層、Cajal細胞について、それぞれの細胞を同定するために適切な抗体を選別した。さらに、HD類縁疾患に対する免疫組織化学染色による診断法の確立を目指して、個々の症例についての検討を試みた。神経節細胞の同定にはHuC/D抗体、Phox2b抗体、グリア細胞にはSox10抗体、Sox2抗体Cajal細胞にはCD117抗体、固有筋層にはSMA抗体が、それぞれ適した抗体であると考えられた。これらの新たな染色方法をHD病類縁疾患に応用することで、腸管組織内の神経節、Cajal細胞、固有筋層をより精密に同定し、分布異常を明確にすることが可能と考えられた。

神経節細胞の未熟性の評価については、BCL-2抗体による免疫組織化学染色が有用との検討結果があるが、染色強度の判定が困難で、更なる検討が必要と考えられた。Phox2b、THについても未熟性のマーカーとしての有用性を検討していく予定である。

HGについては、HuC/D染色にて、概ね、20個/cm以上のHuC/D陽性細胞があれば、HGの可能性は低いと考えられた。対照群の中に、HuC/D陽性細胞が20個/cm以下の症例が5例（臍腸管遺残 1、メッケル憩室 1、NEC 1、鎖肛 1、胎便性腹膜炎 1）認められたが、その原因は明らかでなかった。

今回の全国調査の登録症例全例で、新生児期早期に腸閉塞症状を認めた。したがって新生児期の腸閉塞の緊急手術時に、HGの病理診断に必要な全層生検を行うことを想定し、生検部位や方法（腸管全周を人工肛門造設部で採取するなど）について、病理診断ガイドライン（案）を作成した。今後この方法により、統一された全層生検のデータが集積すれば、HGの診断基準として、具体的な数値が策定できると考えられる。

E. 結論

HD類縁疾患の病理診断ガイドラインの策定にあたり、腸管神経叢の神経節細胞およびグリア細胞、固有筋層、Cajal細胞の評価に適切な抗体を選定した。胎児期から成人までの正常腸管神経叢の発達について、免疫組織化学染色により、評価を試みた。

HuC/D抗体を用いた免疫組織学的検討では、HG症例の筋層間神経節細胞は全例で20/cm未満であった。

HDとの鑑別を確実にを行うことを主旨とし、HG病理診断のためのガイドライン（案）を作成した。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

1. 畑中政博, 中野夏子, 羽賀千都子, 大喜多肇, 松岡健太郎, 中澤温子: 胎児期から成人期にかけての腸管神経叢神経節細胞の病理学的検討. 第32回日本小児病理研究会, 大阪, 2012.9.8.
2. Masahiro Hatanaka, Astuko Nakazawa, Nastuko Nakano, Chizuko Haga, Hajime Okita, Kentaro Matuoka, Mariko Aoki, Akihiro Igarashi, Junko Fujino, Makoto Suzuki, Yuki Ishimaru, Kazunori Tahara, Hitosi Ikeda. Pathological Evaluation of Hypo ganglionosis using Immunohisto chemistry. 第46回太平洋小児外科学会議, Hunter Valley, Australia 2013.4.10.
3. 畑中政博, 中野夏子, 羽賀千都子, 大喜多肇, 松岡健太郎, 中澤温子: 免疫組織化学染色を用いたヒルシュスプルング病類縁疾患に対する病理学的評価. 第50回日本小児外科学会学術集会, 東京, 2013.6.1.

4. 畑中政博, 中野夏子, 羽賀千都子, 大喜多肇, 松岡健太郎, 中澤温子:免疫組織化学染色を用いた腸管神経叢発育の評価. 第102回日本病理学会総会, 札幌, 2013.6.7.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Hirschsprung病類縁疾患： 「疾患特異的iPS細胞を用いた疾患解析と新規治療法開発の可能性」 に関する研究

研究分担者 中畑 龍俊 京都大学iPS細胞研究所 副所長・特定拠点教授

【研究要旨】

Hirschsprung病やHirschsprung病類縁疾患は、小児期からの消化器系の希少難治性疾患群であり、その原因については不明な点が多い。本分担研究においては、疾患の原因解明を目的として、疾患特異的iPS細胞を樹立し、疾患解析を行った。

今回我々は、Hirschsprung病患者末梢血より疾患特異的iPS細胞を樹立し、iPS細胞を神経堤細胞・さらには末梢神経およびグリア細胞へと分化誘導する分化系を確立した。

本研究によりHirschsprung病やHirschsprung病類縁疾患の病態像が明らかになり、新規治療法の開発につながれば、患者や家族に福音をもたらすのみならず、医学研究領域に本邦発の大きなインパクトを与えることが期待される。

研究協力者

桐野 浩輔

（京都大学iPS細胞研究所
大学院特別研究学生）

Hirschsprung病類縁疾患は、その希少性により原因を含めた疾患概念に関するコンセンサスが十分に得られていないが、一部ではHirschsprung病と類似した腸管神経系発生異常が原因として考えられている。

A. 研究目的

Hirschsprung病およびHirschsprung病類縁疾患は、ともに小児期より腸管蠕動不全をきたす疾患である。

Hirschsprung病は、胎生期における腸管神経系の発生異常によって生じ、腸管神経系細胞の前駆細胞である神経堤細胞の機能異常が主な疾患原因と考えられている。モデルマウスにおける表現型がヒトでの表現型と異なること・胎生期にのみ存在するヒト神経堤細胞を実験材料として手に入れることが困難であることなどから、ヒトにおける疾患解析は進んでいない。

近年、疾患特異的iPS細胞を用いることで、多くの疾患で発生段階における細胞機能異常を再現することが可能となった。本分担研究は、京都大学iPS細胞研究所・臨床応用研究部門を中心として、Hirschsprung病およびHirschsprung病類縁疾患の疾患特異的iPS細胞を用いた疾患解析を行い、腸管神経系細胞の発生異常であるHirschsprung病の疾患モデルを作成し、病態や遺伝型と表現型の相関などに関する新たな知見を得ることを目的とする。

B. 研究方法

- 1) Hirschsprung病家族例（父・娘、娘の方がより重症）と非罹患家族（母）よりインフォームドコンセントを得て末梢血を採取した。得られた末梢血より単核球を分離し、それぞれにOct3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, Lin28, shp53の6つの遺伝子をエピソーマルベクターで導入し、iPS細胞の樹立を行った。
- 2) 原因遺伝子の抽出を目的とし、採取した末梢血よりゲノムDNAを抽出してエキソーム解析を行った。解析用ツールとして、参照配列へのマッピングにはBWA(Burrows-Wheeler Aligner)を、一塩基変異および欠失/挿入変異のコールにはGATK(The Genome Analysis Toolkit)を用いた。
- 3) ヒトiPS細胞をTGF- β 阻害薬を含む無血清培地を用いて分化誘導し、CD271およびCD49d陽性の神経堤細胞をFACSにより分離した。
- 4) 分離・濃縮したiPS細胞由来神経堤細胞を用いてsphereを作成、培養することで神経細胞・グリア細胞への分化能を確認した。
- 5) 神経堤細胞をレチノイン酸で刺激することでRETを発現誘導し、RETのリガンドであるGDNFを添加した培地で培養し遊走能を比較した。

(倫理面への配慮)

本研究は、九州大学病院および京都大学の臨床研究・遺伝子解析研究に関する倫理委員会の承認を得て開始された。

また、すべての試料は書面にてインフォームドコンセントを得て収集された。

C. 研究結果

- 1) 患者2名(70-HSR: 娘, 71-HSR: 父)および非罹患家族1名(72-NOR: 母)より採取した末

梢血よりLymphoprepを用いて単核球を分離し、Oct3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, Lin28, shp53の6つの遺伝子を導入した。遺伝子導入にはエレクトロポレーション法を用いた。SNL feeder細胞上で4週間培養を行い、iPS細胞を得た(図1)。得られたiPS細胞は、未分化細胞マーカーの発現およびtransgeneのsilencingを確認した。

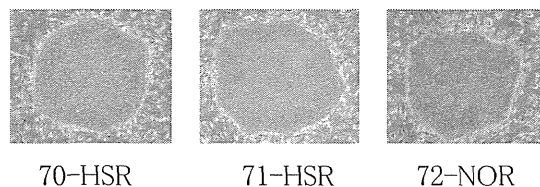


図1. 樹立したiPS細胞

- 2) 採取した末梢血よりゲノムDNAを抽出し、エキソーム解析を行った。過去に論文での報告のあるRET遺伝子のヘテロ接合ナンセンス変異(c.C538T:p.R180X)が罹患患者である父・娘に同定された。同定された変異を、ゲノムDNAをPCRで増幅後に直接シーケンス法にて再解析した(図2)。

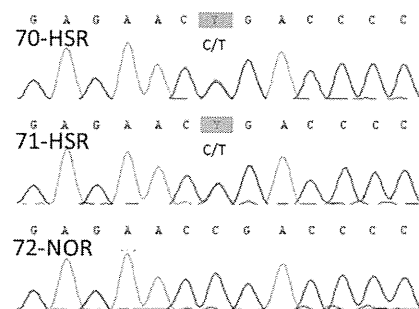


図2. 同定されたRET遺伝子の変異

- 3) 樹立したiPS細胞をTGF- β 阻害剤(SB431542)を含む無血清培地を用いて7日間分化誘導した。神経堤細胞を含む細胞集団をフローサイトメトリーを用いて解析し、神経堤細胞マーカーであるCD271陽性、CD49d陽性の細胞を認め、この細胞をFACSにより分離することができた。免疫染色により

神経堤細胞マーカーであるNestinおよびAP2 α の発現を確認した(図3)。分化効率(CD49d陽性細胞の割合)は疾患および健常人の間で差を認めなかった(図4)。

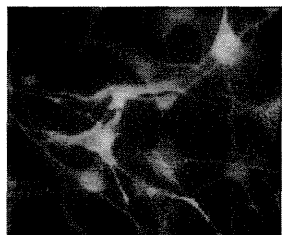


図3. 分化誘導した神経堤細胞
Nestin:緑,AP2 α :赤,DAPI:青

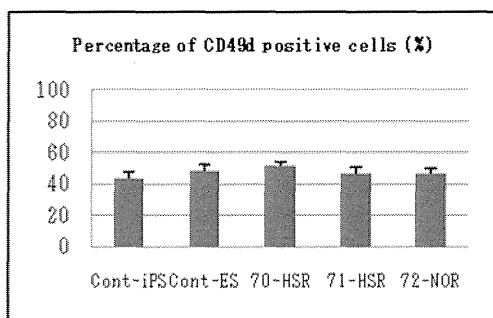


図4. 神経堤細胞の分化誘導効率

- 4) iPS細胞より分化誘導した神経堤細胞を、神経栄養因子(GDNF, BDNF, NGF)を添加した無血清培地で培養し、末梢神経およびグリア細胞を誘導した。免疫染色により末梢神経マーカーであるPeripherinおよびTuj1、グリア細胞マーカーであるGFAPの発現を確認した(図5)。

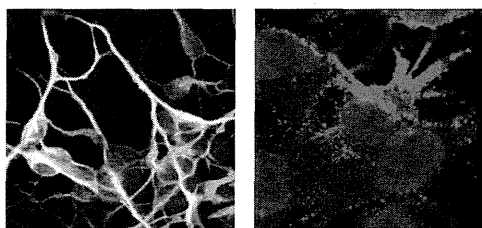


図5. 末梢神経細胞およびグリア細胞
左:末梢神経細胞 Tuj1:緑,Peripherin:赤,DAPI:青
右:グリア細胞 GFPA:赤,DAPI:青

- 5) 神経堤細胞をレチノイン酸(all-trans型)で

48時間刺激し、RETの発現誘導を行った(図6)。このRET陽性神経堤細胞を用いて遊走能解析を行った。RETのリガンドであるGDNFを添加することにより、神経堤細胞の遊走が促進された(図7)。

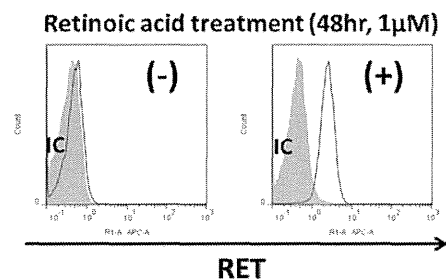
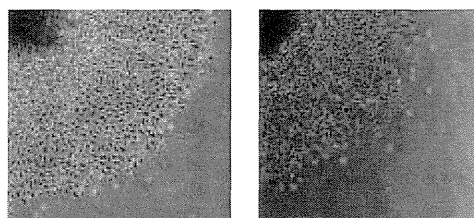
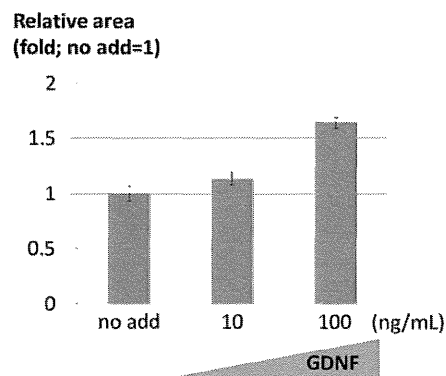


図6. 神経堤細胞のRET発現誘導



GDNF添加なし GDNF100ng/mL添加
図7. RET陽性神経堤細胞の遊走能解析

D. 考察

Hirschsprung病およびHirschsprung病類縁疾患の病態解明を目指した研究を行うにあたり、疾患原因に関する知見がある程度集積しているHirschsprung病の解析を優先することとし、上述のように疾患特異的iPS細胞を樹立した。また、ヒトiPS細胞を比較的短期間で神経堤細胞を分化誘導し、分離することが可能となった。

これまでに神経堤細胞の分化能および遊走能を評価する解析系を立ち上げたが、今後はこれらの解析系を用いて疾患とコントロールiPS由来神経堤細胞の機能評価・比較検討を行っていく。

また今回は表現促進現象を有する家族例（父より娘が重症）から細胞検体の採取を行った。この家族例において父子に共通するRET遺伝子の変異が同定されたが、表現促進現象にはこれとは別に何らかのmodifierの存在が示唆される。今後予定している細胞機能解析と網羅的遺伝子解析(エキソーム解析)を総合することで、従来の家系解析や連鎖解析では解明することの出来なかった「遺伝型と表現型の相関」を明らかにすることが期待される。

E. 結論

疾患特異的iPS細胞を用いることにより、これまで困難であったヒト神経堤細胞の機能異常を解析することが可能となった。神経堤細胞に由来する腸管神経系の発生、および腸管神経系の発生異常に起因するHirschsprung病やHirschsprung病類縁疾患といった疾患の病態については不明な点が多い。本研究はこれらの疾患原因を解明する糸口になると考えた。

F. 研究発表

・学術雑誌等での発表

1. Sakai H., Okafuji I., Nishikomori R., Abe J., Izawa K., Kambe N., Yasumi T., Nakahata T., Heike T.: The CD40-CD40L axis and INF-g play critical roles in Langerhans giant cell formation. *Int. Immunol.* 24(1):5-15,2012.
2. Izawa K., Hijikata A., Tanaka N., Kawai T., Saito M.K., Goldbach-Mansky R., Aksentijevich I., Yasumi T., Nakahata T., Heike T., Nishikomori R., Ohara O.: Detection of base substitution-type somatic mosaicism of the NLRP3 gene with >99.9% statistical confidence by massively parallel sequencing. *DNA Res.* 19(2):143-152,2012..
3. Morishima T., Nomura A., Saida S., Watanabe K., Yagi H., Matsumoto M., Fujimura Y., Heike T., Nakahata T., Adachi S.: Pediatric idiopathic TTP diagnosed with decreased ADAMTS13 activity. *Pediatr. Int.* 54(3):422-3, 2012.
4. Tsuchiya A., Imai M., Kamimura H., Takamura M., Yamagiwa S., Sugiyama T., Nomoto M., Heike T., Nagasawa T., Nakahata T., Aoyagi Y.: Increased susceptibility to severe chronic liver damage in CXCR4 conditional knock-out mice. *Dig. Dis. Sci.* 57(11):2892-2900, 2012. DOI 10.1007/s10620-012-2239-8, 2012.
5. Hiejima E., Komatsu H., Takeda Y., Sogo T., Inui A., Okafuji I., Nishikomori R., Nakahata T., Fujisawa T.: Acute liver failure in young children with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis without macrophage activation syndrome: Report of two cases. *J. Pediatr. Child Health* 48(3):E122-5,2012.
6. Kawai T., Nishikomori R., Izawa K., Murata Y., Tanaka N., Sakai H., Saito M., Yasumi T., Takaoka Y., Nakahata T., Mizukami T., Nunoi H., Kiyohara Y., Yoden A., Mutara T., Sasaki S., Ito E., Akutagawa H., Kawai T., Imai C., Okada S., Kobayashi M., Heike T.: Frequent somatic mosaicism of NEMO in T cells of patients with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia and immunodeficiency. *Blood* 119(23):5458-66,2012.
7. Tsumura M., Okada S., Sakai H., Yasunaga S., Ohtsubo M., Murata T., Obata H., Yasumi

- T., Kong X., Abhyankar A., Heike T., Nakahata T., Nishikomori R., Al-Muhsen S., Boisson-Dupuis S., Casanova J., AlZahrani M., Shehri MA., ElGhazali G., Takihara Y., Kobayashi M.: Dominant-negative STAT1 SH2 domain mutations in unrelated patients with Mendelian susceptibility to mycobacterial disease. *Human Mutation* 33(9):1377-87, 2012. doi: 10.1002/humu.22113, 2012 Sep
8. Kikuchi A., Hasegawa D., Ohtsuka Y., Hamamoto K., Kojima S., Okamura J., Nakahata T., Manabe A.: Outcome of children with Refractory Anaemia with Excess of Blast (RAEB) and RAEB in Transformation (RAEB-T) in the Japanese MDS99 study. *Brit. J. Haematol.* 158(5):657-661, 2012.. 06/2012; DOI:10.1111/j.1365-2141.2012.09210.x
 9. Tanaka T., Takahashi K., Yamane M., Tomida S., Nakamura S., Oshima K., Niwa A., Nishikomori R., Kambe N., Hara H., Mitsuyama M., Morone N., Heuse J.E., Yamamoto T., Watanabe A., Sato-Otsubo A., Ozawa S., Asaka I., Heike T., Yamanaka S., Nakahata T., Saito M.K.: Induced pluripotent stem cells from CINCA syndrome patients as a model for dissecting somatic mosaicism and drug discovery. *Blood* 120(6):1299-308, 2012.
 10. Egawa N., Kitaoka S., Tsukita K., Naitoh M., Takahashi K., Yamamoto T., Adachi F., Kondo T., Okita K., Asaka I., Aoi T., Watanabe A., Yamada Y., Morizane A., Takahashi J., Ayaki T., Ito H., Yoshikawa K., Yamawaki S., Suzuki S., Watanabe D., Hioki H., Kaneko T., Makioka K., Okamoto K., Takuma H., Tamaoka A., Hasegawa K., Nonaka T., Hasegawa M., Kawata A., Yoshida M., Nakahata T., Takahashi R., Marchetto M.C., Gage F.H., Yamanaka S., Inoue H.: Drug screening for ALS using patient-specific induced pluripotent stem cells. *SciTransl Med.* 1;4(145):145ra104, 2012 Aug
 11. Kawai T., Saito M., Nishikomori R., Yasumi T., Izawa K., Murakami T., Okamoto N., Mori Y., Nakagawa N., Imai K., Nonoyama S., Wada T., Yatie A., Oomori K., Nakahata T., Heike T.: Multiple reversions of an IL2RG mutation restore combined immunodeficiency patient. *J. Clin. Immunol.* 32(4):690-7, 2012.
 12. Nakazawa Y., Saito S., Yanagisawa R., Suzuki T., Toshiro Ito T., Ishida F., Muramatsu H., Matsumoto K., Kato K., Ishida H., Umeda K., Souichi Adachi S., Nakahata T., Koike K.: Recipient seropositivity for adenovirus type 11 is highly predictive of the development of hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* in press.
 13. Yanagimachi MD, Niwa A, Tanaka T, Ozaki F, Nishimoto S, Murata Y, Yasumi T, Ito J, Tomida S, Oshima K, Asaka I, Goto H, Heike T, Nakahata T, Saito MK: Robust and highly-efficient differentiation of functional monocytic cells from human pluripotent stem cells under serum- and feeder cell- free conditions. *PLoS ONE.* 4/3/ 2013; 8(4): e59243.
 14. Kondo T., Asai M., Tsukita K., Kutoku Y., Ohsawa Y., Sunada Y., Imamura K., Egawa N., Yahata N., Okita K., Takahashi K., Asaka I., Aoi T., Watanabe A., Watanabe K., Kadoya C., Nakano R., Watanabe D., Maruyama K., Hori O., Hibino S., Choshi T., Nakahata T., Hioki H., Kaneko T., Naitoh M., Yoshikawa K., Yamawaki S., Suzuki S., Hata R., Ueno S., Seki T., Kobayashi K., Toda T., Murakami K.,

- Irie K., Klein W.K., Mori H., Asada T., Takahashi R., Iwata N., Yamanaka S., Inoue H.: Modeling Alzheimer's disease using iPSCs reveals stress phenotypes associated with intracellular A β and differential drug responsiveness. *Cell Stem Cell* 12(4):487-496. 2013.
15. Morishima T, Watanabe KI, Niwa A, Hirai H, Saida S, Tanaka T, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Saito MK, Matsubara K, Adachi S, Kobayashi M, Nakahata T, Heike T. Genetic correction of HAX1 in induced pluripotent stem cells from a patient with severe congenital neutropenia improves defective granulopoiesis. *Haematologica*. 2013 Aug.23.98: doi 10.3324/haematol.2013.083873
16. Egawa N., Kitaoka S., Tsukita K., Naitoh M., Takahashi K., Yamamoto T., Adachi F., Kondo T., Okita K., Asaka I., Aoi T., Watanabe A., Yamada Y., Morizane A., Takahashi J., Ayaki T., Ito H., Yoshikawa K., Yamawaki S., Suzuki S., Watanabe D., Hioki H., Kaneko T., Makioka K., Okamoto K., Takuma H., Tamaoka A., Hasegawa K., Nonaka T., Hasegawa M., Kawata A., Yoshida M., Nakahata T., Takahashi R., Marchetto M.C., Gage F.H., Yamanaka S., Inoue H.: Response to Comment on "Drug Screening for ALS Using Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells". *Science Transl. Med.* 06/2013; 5(188):188lr2. DOI:10.1126/scitranslmed.3005697
17. 中畑龍俊：総論 再生医療の進歩（II 再生医療の進歩）。小児科診療（Vol.75 No.1）57-63, 2012年1月（特集 最先端医療の進歩—臓器移植・再生医療・遺伝子治療）。
18. 中畑龍俊：白血病治療の進歩と今後の展望。日本小児血液・がん学会雑誌（第49巻1・2号, 2012）。
19. 中畑龍俊, 丹羽明：幹細胞増幅, 第10章 内科疾患と再生医療, カラー版内科学, 門脇孝, 永井良三（総編集）, p447-450, 2012, 西村書店, 東京
20. 斎藤潤, 中畑龍俊：疾患特異的 iPS細胞. 再生医療12(1):19-29, 2013.
21. 中畑龍俊：総論疾患iPS細胞の樹立と臨床病態解析への応用. *Medical Science Digest(MSD)* 39 (11) : 4(504)-6(506) 2013.
- ・学会等での講演、発表
- 特別講演、招待講演、招請講演、教育講演**
1. 中畑龍俊：特別講演, iPS細胞研究の今, その可能性と将来展望. 第115回日本小児科学学術集会 2012年4月20-22日 (20日) 福岡国際会議場 福岡市
2. 中畑龍俊：招待講演, iPS細胞を用いたこれからの小児医療の可能性. 旭川小児科医会講演会 2012年5月15日 旭川ロワジュールホテル
3. 中畑龍俊：招請講演, iPS細胞研究の進展. 第59回日本臨床検査医学会学術集会 2012年11月29日~12月2日 (11/30) 国立京都国際会館
4. 中畑龍俊：教育講演, 小児患者におけるiPS細胞の応用. 第49回日本小児アレルギー学会 2012年9月15-16日 (16日) 大阪国際会議場 中畑龍俊：特別講演, iPS細胞研究が切り開く未来の医療. 日本学術会議公開学術講演会「未来社会を築く生命科学と医療のフロンティア」2013年8月3日 京都大学薬学部記念講堂
5. 中畑龍俊：特別講演, iPS細胞の小児医療への応用. 第38回東日本小児科学会 2013

年11月23日 大宮ソニックシティ (さいたま市)

6. 中畑龍俊 : 教育講演, iPS細胞の臨床応用.
第55回日本小児血液・がん学会学術集会.
2013年11月29日-12月1日 (30日) ヒルトン
福岡シーホーク

国際学会

7. Yanagimachi M, Niwa A, Tanaka T, Oshima K, Saito M, Nakahata T: Differentiation of monocytic lineage cells from human iPS cells by using a serum and feeder free culture method. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June 13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
8. Niwa, Akira, Saito, Megumu, Oshima, Koichi, Yanagimachi, Masakatsu, Tanaka, Takayuki, Kato, Itaru, Nakahata, Tatsutoshi: Human ESC/iPSC-Derived mesenchymal stroma can support hematopoietic progenitors. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June 13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
9. Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Tanaka T, Saida S, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Matsubara K, Adachi S, Nakahata T, Heike T: Induced pluripotent stem cell model of severe congenital neutropenia with HAX1 gene deficiency. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June 13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
10. Yokoyama K, Ikeya M, Nasu A, Tanaka T, Saito M, Umeda K, Nishikomori R, Nakahata T, Heike T, Toguchida J: Understanding the pathology of the arthropathy in chronic

infantile neurological cutaneous and articular syndrome by using iPS cells technology. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June 13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.

11. Tanaka T, Saito MK., Takahashi K, Yamanaka S, Nakahata T: Induced pluripotent stem cells from CINCA syndrome patients as a model for dissecting somatic mosaicism and drug discovery. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June 13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
12. Manabe A, Kikuchi A, Kojima S, Tsuchida M, Hayashi Y, Koike K, Ohara A, Ishii E, Komada Y, Nakahata T: Long-term follow-up of more than 545 children with myelodysplastic syndrome (MDS) and myeloproliferative neoplasms (MPN). VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, November 7-9, 2012, Prague
13. Honda Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Kojima S, Ito M, Kikuchi A, Nakahata T, Manabe A: Clinic characteristics of 23 children with juvenile myelomonocytic leukemia who developed blast crisis: MDS Committee of LSPHO. VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, November 7-9, 2012, Prague
14. Hasegawa D, Chen X-j, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaïke Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A: Treatment outcome of 67 cases with refractory cytopenia of childhood (RCC): A Prospective Registration

Through The Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology(JSPHO). VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, November 7-9, 2012, Prague

15. Suzuki N., Hira A., Niwa A., Matsuo K., Takata M., Yabe M., Nakahata T., Saito M.: Mesodermal development from reprogrammed Fanconi anemia cells is affected by ALDH2 enzymatic activity. 11th Annual Meeting of international Society for Stem Cell Research (ISSCR). 7/12-7/15, Boston, MA, USA.
16. Yoshida M., Kitaoka S., Yamane M., Tsukita K., Inoue H., Saito M., Nakahata T.: Spinal moter neurons generated from induced pluripotent stem cells derived from spinal muscular atrophy patients failed to cluster acetylcholine receptors at the neuromuscular junctions. 11th Annual Meeting of international Society for Stem Cell Research (ISSCR). 7/12-7/15, Boston, MA, USA.
17. 石田宏之, 今井耕輔, 本間健一, 田村真一, 今村俊彦, 斎藤潤, 大嶋宏一, 伊藤雅文, 中畑龍俊, 野々山恵章: 白血球減少, 骨髓異形成とリンパ浮腫を呈するGATA-2異常. 第115回日本小児科学会学術集会 2012年4月20-22日 (21日) 福岡国際会議場 福岡市 (口演)
18. 川村晃久, 十河孝浩, 上辻麻子, 加藤格, 長谷川浩二, 戎家美紀, 西田栄介, 中畑龍俊: 表面マーカーによる初期化成功予測因子の解析. 第33回日本炎症・再生医学会 2012年7月5-6日 (5日) ホテル日航福岡
19. 川村晃久, 十河孝浩, 尾野亘, 加藤格, 長谷川浩二, 中畑龍俊: 初期化誘導過程で出現する心筋前駆様細胞を用いた安全かつ効率的な心筋再生療法の確立. 第33回日本炎症・再生医学会 2012年7月5-6日 (5日) ホテル日航福岡
20. 井澤和司, 西小森隆太, 吉岡耕平, 斎藤潤, 中畑龍俊, 平家俊男: CINCA症候群におけるNLRP3体細胞モザイク変異. 第33回日本炎症・再生医学会 2012年7月5-6日 (5日) ホテル日航福岡

国内学会 (一般演題)

15. 中畑龍俊: 疾患特異的iPS細胞を用いた難治性疾患の画期的診断・治療法の開発に関する研究. (重点研究成果発表) 平成23年度厚生労働省難治性疾患克服研究推進事業研究成果発表会「再生医療技術及び遺伝子治療技術の難治性疾患治療への応用」 2012年1月14日 大阪国際会議場
16. 井澤和司, 土方敦司, 西小森隆太, 小原収, 田中尚子, 河合朋樹, 八角高裕, 斎藤潤, 中畑龍俊, 平家俊男: 次世代シーケンサーによるNLRP3体制モザイクの診断. 第115回日本小児科学会学術集会 2012年4月20-22日 (21日) 福岡国際会議場 福岡市 (口演)
21. 本田裕子, 土田昌宏, 増永敦子, 吉見礼美, 小島勢二, 伊藤雅文, 菊池陽, 中畑龍俊, 真部淳: 経過中に急性転化したJMML23例の検討; MDS委員会のデータベースから (口演) 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 2012年11月30-12月2日 (11/30) パシフィコ横浜会議センター
22. 才田聡, 渡邊健一郎, 佐藤亜以子, 照井君典, 吉田健一, 奥野友介, 土岐力, 王汝南, 白石友一, 宮野悟, 加藤格, 森嶋達也, 梅田雄嗣, 平松英文, 藤野寿典, 足立壮一, 丹羽明, 中畑龍俊, 伊藤悦朗, 小川誠司, 平家俊男: NOGマウスを用いたTAMの病態解析 (口演) 第54回日本小児

- 血液・がん学会学術集会 2012年11月30-12月2日 (12/2) パシフィコ横浜会議センター
23. Hasegawa D, Chen X-j, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaïke Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A: Treatment outcome of refractory cytopenia of childhood (RCC):A prospective registration through the Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology(JSPHO) between 1999 and 2008. (ワークショップ) 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 2012年11月30-12月2日 (12/2) パシフィコ横浜会議センター
24. Yagasaki H, Shichino H, Ohara A, Kudo K, Tsuchida M, Kobayashi R, Ito E, Watanabe K, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Ohga S, Nakahata T, Kojima S on behalf of Japanese Childhood Aplastic Anemia Study Group: Outcome of immunosuppressive therapy in children with fulminant aplastic anemia. (ワークショップ) 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 2012年11月30-12月2日 (12/2) パシフィコ横浜会議センター
25. 柳町昌克, 丹羽明, 田中孝之, 村田祐樹, 八角高裕, 金澤伸雄, 平家俊男, 中畑龍俊, 齋藤潤: iPS細胞から単球・樹状細胞の分化誘導と疾患iPS細胞研究への応用. 第5回自己炎症疾患研究会 2012年7月6日 福岡朝日ビル
- ・その他、専門医、一般医等医療従事者への情報提供 (シンポジウムの開催、講演等での発表)
1. 中畑龍俊: 患者さんから樹立するiPS細胞を用いた今後の小児医療. 第8回医学生・若手医師のための小児科診療最前線 2012年6月23日 北野病院 5F(きたのホール)
 2. 中畑龍俊: iPS細胞を用いた今後の医療の可能性. 第23回小児科血液セミナー2012年7月19日 広島大学病院
 3. 中畑龍俊: iPS細胞を用いた今後の医療の可能性. 第7回信州肝胆膵外科先端医療研究会 2012年11月17日 ホテルブエナビスタ (松本市)
 4. 中畑龍俊: 患者さんから作成するiPS細胞を用いた今後の医療. 第6回高知県血液・細胞治療研究会 2012年12月15日 高知大学医学部附属病院臨床講義棟 (南国市)
- ・患者、家族、患者会や一般市民への情報提供 (シンポジウムの開催、講演等での発表、マスコミでの発表など)
1. 中畑龍俊: 小児の難治性血液疾患とiPS細胞. 再生つばさの会大阪医療講演会/相談会 2012年3月10日 エルおおさか (大阪府立労働センター)
 2. 中畑龍俊: 難治性血液疾患とiPS細胞. 再生つばさの会 (再生不良性貧血, 骨髄異形成症候群, 発作性夜間ヘモグロビン素尿症患者・家族の会) 「横浜医療講演会」2012年9月8日 神奈川県総合薬事保健センター
 3. 中畑龍俊: iPS細胞の今とこれから. 第一回市民公開講座「iPS細胞こんにちは! ~さい帯血は生命のお母さん~」2012年11月29日 よみうりホール (東京)
- G. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
総合分担研究報告書

胆道閉鎖症・非胆道閉鎖症新生児・乳児胆汁うっ滞症候群に 関する検討

研究分担者（順不同）	仁尾 正記	東北大学・医学系研究科 教授
	松井 陽	国立成育医療研究センター 病院長
	窪田 正幸	新潟大学・医歯学総合研究科 教授
	北川 博昭	聖マリアンナ医科大学・医学研究科 教授
	菫澤 融司	杏林大学・医学研究科 教授
	安藤 久實	名古屋大学・医学系研究科 教授
	橋本 俊	名古屋市立大学大学院医学研究科分子神経生物学 研究員(医療法人 純正会 名古屋西病院 院長)
	鈴木 達也	藤田保健衛生大学医学研究科 教授
	工藤 豊一郎	国立成育医療研究センター肝臓内科 医長
	岡田 忠雄	北海道大学消化器外科I 講師

【研究要旨】

消化器系の希少・難治性疾患群として特に上記分担研究者のグループにより胆道閉鎖症ならびに非胆道閉鎖症新生児・乳児胆汁うっ滞症候群に関する研究を行った。具体的には胆道閉鎖症と非胆道閉鎖症新生児・乳児胆汁うっ滞とに分けて現状の把握と必要な調査研究を行った上、最終的に両者を統合するかたちでシームレスな診断ガイドライン作成にむけての研究を行うこととした。

具体的には胆道閉鎖症については、仁尾、安藤、北川、窪田、鈴木、橋本、岡田の各分担研究者により現在の分類試案の見直しと日本胆道閉鎖症研究会による全国登録データの解析ならびに診断基準ならびに重症度分類の策定を行った。

非胆道閉鎖症新生児・乳児胆汁うっ滞症候群については、松井、菫澤、工藤、仁尾の各分担研究者によりこのカテゴリーの疾患状況がどのようなものなのかを把握するための全国調査を企画した。

研究協力者

虻川 大樹（宮城県立こども病院 部長）	野坂 俊介
林田 真（九州大学病院 助教）	（独立行政法人国立成育医療研究センター 部長）
佐々木 英之（東北大学大学院 講師）	伊藤 玲子
坂本 修（東北大学 准教授）	（独立行政法人国立成育医療研究センター）

脇坂 宗親

(聖マリアンナ医科大学 准教授)

A. 研究目的

消化器系の希少・難治性疾患群として、今回の分担研究者のグループでは胆道閉鎖症ならびに非胆道閉鎖症新生児・乳児胆汁うっ滞症候群に関連した検討を行い、最終的にこれらの疾患に対応したシームレスな診断ガイドライン作成を目指すこととした。

B. 研究方法

この分野の研究を行うにあたり、まずは胆道閉鎖症と非胆道閉鎖症新生児・乳児胆汁うっ滞とに分けて現状の把握と必要な調査研究を行った上、最終的に両者を統合するかたちでシームレスな診断ガイドライン作成にむけての研究を行うこととした。

1. 胆道閉鎖症に関して

分担研究者の仁尾が事務局代表を務めている日本胆道閉鎖症研究会では1989年より胆道閉鎖症の全国登録事業を行っている。胆道閉鎖症については、この登録事業をベースに研究を進めていくこととした。

具体的な研究方法としては

- 1) 現在の登録内容の詳細な検討
- 2) 胆道閉鎖症の病態解析
 - ①現在の病型分類の見直し
 - ②肝内胆管の形態と予後の関連調査
- 3) 登録事業の悉皆性向上に向けた取り組みを行うこととした。

このカテゴリーの研究は特に仁尾、安藤、北川、窪田、鈴木、橋本、岡田の各分担研究者と研究協力者の佐々木が担当することとした。

2. 非胆道閉鎖症胆汁うっ滞症候群について

このカテゴリーには様々な疾患が含まれている。その中でAlagille症候群やTORCH症候群な

どの限られた疾患の現状調査が行われているのみで、包括的かつ網羅的な現状調査が行われていない。よって本研究ではこの実態調査を行う予定とした。

このカテゴリーの研究は松井、仁尾、工藤、蕨沢の各分担研究者と虻川の研究協力者により行われることとなった。

これらの実態調査は取りまとめ機関としての東北大学で倫理委員会の承認を得ることで倫理的配慮を行った。

C. 研究結果

1. 胆道閉鎖症に関して

1) 登録内容の検討 (図1)

これまでの登録情報より今回各因子別にKaplan-Meier法による生存率曲線を作成した。これまでも言われていたことであるが、病型や手術時日令は予後に有意に関連していることが示された。特に病型では1cyst型が最も良好な病型であった。

2) 胆道閉鎖症の病態解析

上述のように治療成績と胆道閉鎖症の病型に関連があることがしめされた。しかし最も良好である1cyst型は以前より先天性胆道拡張症との異同について学会で論じられていたところである。本研究ではこれについての検討を行うために、葛西手術時の術中胆道造影所見と臨床経過との検討・長期生存例の肝内胆管像と臨床経過との検討という二つを行うことで現在の病型分類の見直しに必要な基礎資料を収集することとなった。全国登録のデータから葛西手術時に肝内胆管の造影像が得られている可能性のある症例を全国登録のデータから2006年より2011年までの症例57例をピックアップした。(図2)

3) 登録の悉皆性向上に向けて

現在の登録事業は登録用紙による紙ベースの登録である。この登録に関する業務軽減ならび

に、データ精度の向上をはかり、より有用なデータを登録参加者へ還元することが悉皆性向上に向けて必要と考えられた。それに向けて、登録をオンライン化することを計画した。具体的にはUMINのオンライン登録システムを利用して行うことについて、UMINとの話し合いを行った。

4) 胆道閉鎖症の診断基準ならびに重症度分類の作成について

①診断基準

診断基準については、主に松井、工藤らにより、これまでの文献をレビューして、診断の手引きを作成した。(資料1)

②重症度分類の作成

胆道閉鎖症の重症度分類については、その重症度を規定するものが多岐に渡ることが班内で開催されたエキスパートミーティングで明らかにされた。具体的には

- i. 胆汁うっ滞の有無
- ii. 胆道感染の程度
- iii. 門脈圧亢進症の程度
- iv. 身体活動制限
- v. 関連する病態の程度
- vi. 肝機能障害の程度

によって規定されることが確認された。それぞれの病態の重症度を過去の論文のレビューないしは既存のガイドラインを参照して規定して、それらを総合的に判定する形で重症度判定を行うこと方式を採用した。(資料2)

2. 非胆道閉鎖症胆汁うっ滞症候群について

非胆道閉鎖症胆汁うっ滞症候群についての包括的・網羅的実態調査を行うための準備を本年度は行った。

まず調査する具体的疾患として

- ①新生児肝炎
- ②シトリン欠損症

③Alagille症候群

④非症候性肝内胆管減少症

⑤進行性家族性肝内胆汁うっ滞症

⑥胆汁酸代謝異常症

⑦ウイルス性肝炎

⑧腸管不全・静脈栄養関連肝障害の調査を行うこととした。

また調査対象として

①日本小児外科学会の関連施設

②日本周産期・新生児医学会の関連施設

③日本小児栄養消化器肝臓学会の関連施設

に対して行うこととした。

それに向けてアンケートのフォームを策定し、グループ内での検討を重ねた。また各学会に対してアンケート調査を行う許可申請を行い、3学会からの承諾を得ることができた。

D. 考察

今回は胆道閉鎖症ならびに非胆道閉鎖症新生児乳児胆汁うっ滞症候群の包括的調査研究ならびにシームレスな診断治療ガイドライン作成の1年目の研究を行った。上記のように、既存のデータ解析ならびに新規のデータ収集に向けての準備を中心に行った。

既存のデータ解析では、従来言われていた胆道閉鎖症の治療成績に病型と手術時日令が影響を与えているということが統計学的に証明された。これにより現在の病型分類にある程度の妥当性があることが考えられる。しかし一方で以前から学会で議論がなされてきた嚢胞を形成している胆道閉鎖症と先天性胆道拡張症との異同については未だ結論が出ておらず、このことが病型と予後との関係に影響を与えることが懸念される。これを解消する目的で本研究では病型分類の見直しを行うことを計画した。これに必要な調査研究として、葛西手術時の肝内胆管像の検討と長期生存例の肝内胆管像の検討を行う

準備を進めることができた。

胆道閉鎖症研究会による全国登録事業の悉皆性回復にむけてのオンライン化移行についても、これまでの全国登録との整合性を保ちつつ、より有効かつ簡便な登録へと移行できるように、検討を重ねているところである。

非胆道閉鎖症新生児乳児胆汁うっ滞症候群については、これまでこのカテゴリーの包括的かつ網羅的な調査研究が行われていなかったことが改めて確認された。このカテゴリーは胆道閉鎖症との鑑別診断も含めて重要なカテゴリーであると同時に、昨今の周産期医療の進歩に伴う体出生体重児増加による腸管不全・静脈栄養関連肝障害がクローズアップされている状況でもあり、実態把握は重要である。さらに、昨今静脈栄養関連肝障害の治療効果が注目されている ω 3系脂肪酸製剤の国内使用承認にむけての基礎的データとなる可能性もある。

関連施設に向けての調査研究を次年度に速やかに進めるようにアンケート調査内容の検討ならびに関連学会からの承認を得て、順次調査を進行中であるが、集計を終えるには至らなかった。

2年目は主に、当該疾患領域において最も患者数が多い胆道閉鎖症に絞って、その診断基準ならびに重症度分類の作成の作業を行った。この作業を通じて、まずは最も基本的な診断基準ならびに重症度分類が作成された。また今回の作業の中から、本格的な系統的レビューによる胆道閉鎖症の診断治療ガイドラインを作成するための作業を行う中核作業チームが結成され、現在本格的な作成作業の準備段階である。

1 評価

1) 達成度について

既存の胆道閉鎖症全国登録制度の悉皆性を向上させるためのオンライン化へ向けた作業に着

手することができた。またこの作業過程において、既存の登録制度の情報制度向上の作業を推進することができた。

またこれまで明確に規定されていなかった胆道閉鎖症の診断の手引きと重症度分類について文書化し、学会の評価手続きを進めるに至ったことは、今後の胆道閉鎖症の病態評価の均一化を図ることにつながり、より高精度の情報収集が可能となることが期待される。

E. 結論

小児領域において最も肝移植を要する症例の多い胆道閉鎖症について全国的な調査のより高精度化を図り、主要症状の頻度や治療の現状が解析された。これらのデータとともに、文献検索やエキスパートパネルによるミーティングなどを経て診断の手引き、重症度分類案が策定され、さらにより系統的レビューによる診断治療ガイドライン作成への端緒を開くことができた。

非胆道閉鎖症新生児乳児胆汁うっ滞症候群については、その疾患領域の複雑さと希少さが改めて浮き彫りとなり、今後さらに詳細な検討が必要であることが再認識された。

引用文献・出典

F. 研究発表

1) 国内

口頭発表	46件
原著論文による発表	1件
それ以外（レビュー等）の発表	24件
そのうち主なもの	

論文発表

松井陽, 胆道閉鎖症のスクリーニング - 便色カードを母子健康手帳に綴じ込むことの意義 - 小児保健研究2012,71(6):795-799

仁尾正記, 佐々木英之, 田中拓, 岡村敦, 小
児から成人に至る外科 こどもからおとなへ胆
道閉鎖症術後の成人期の問題 日本外科学会雑
誌(0301-4894)114巻4号 Page201-205

学会発表

窪田正幸, 奥山直樹, 佐藤佳奈子, 仲谷健吾,
荒井勇樹, 大山俊之, 当科における胆道閉鎖術
後自己肝長期生存例の現況と問題点 第39回日
本胆道閉鎖研究会 (大阪) 2012.11.17

林田真, 柳佑典, 田口智章脳死肝臓移植希望
レシピエント選択基準の現状と問題点第49回日
本小児外科学会2011年5月14-16日

2) 海外

口頭発表	29件
原著論文による発表	26件
それ以外 (レビュー等) の発表	2件
そのうち主なもの	

論文発表

Nio M, Sasaki H, Takana H, Okamura A. Redo
surgery for biliary atresia. *Pediatr Surg Int.* 29(10):
989-93, 2013

Hussein M.H, Hashimoto T, Suzuki T, Daoud
G.A-H, Goto T, Children undergoing liver
transplantation for treatment of inherited
metabolic diseases are prone to higher oxidative
stress, complement activity and transforming
growth factor- β 1, *Annals of Transplantation,*
18,63-68,2103

Matsuura T, Kohashi K, Yanagi Y, Saeki I,
Hayashida M, Aishima S, Oda Y, Taguchi, A
morphological study of the removed livers from
patients receiving living donor liver transplantation

for adult biliary atresia. *PediatrSurg Int.* 2012
Dec:28(12):1171-5

学会発表

Abukawa D, Kakuta F, Takeyama J, Tazawa Y
Nonsyndromic paucity of interlobular bile ducts in
transient neonatal cholestasis. The 4th World
Congress of Pediatric Gastroenterology,
Hepatology and Nutrition (WCPGHAN 2012),
Taipei, Taiwan, 2012.11.14

Okada T, Honda S, Miyagi H, Minato M, Cho K,
Taketomi A, Outcomes are Different between
Prenatal and Postnatal Diagnosed Cystic Biliary
Atresia Infants 2013 Joint Meeting of 13 th
APPSPGHAN and 40 th JSPGHAN 2013.11.1.

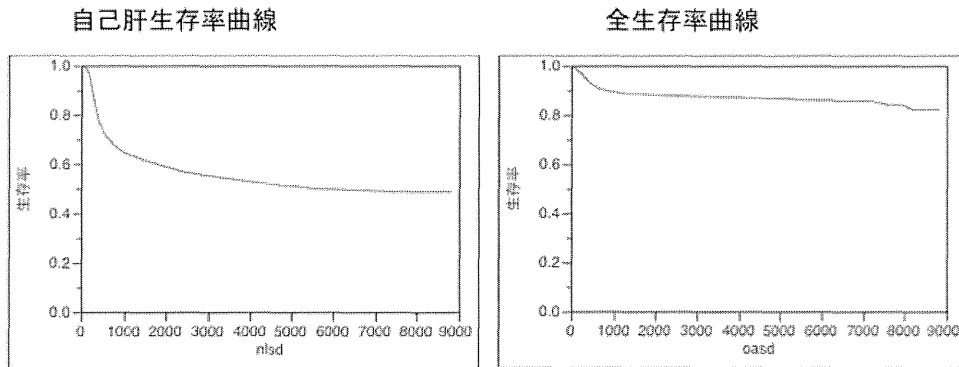
Sasaki H, Tanaka H, Wada M, Sato T, Nishi K,
Nakamura M, Okamura A, Sekiguchi S, Kawagishi
N, Nio M, Analysis of 59 biliary atresia patients
who required liver transplantation following with
Kasai operation in a single institution 45th Annual
Meeting of The Pacific Association of Pediatric
Surgeons, 2013, April

〔図書〕 (計5件)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

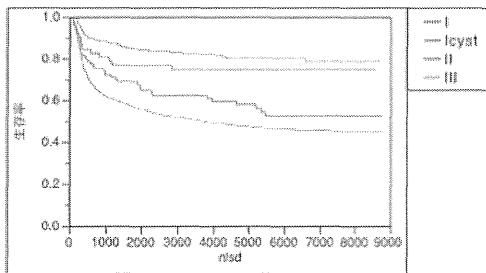
図1 胆道閉鎖症全国登録におけるKaplan-Meier法による生存率曲線



1年自己肝生存率: 80.2%
 3年自己肝生存率: 64.1%
 5年自己肝生存率: 59.6%
 10年自己肝生存率: 53.7%
 15年自己肝生存率: 50.0%
 20年自己肝生存率: 48.9%

1年全生存率: 94.2%
 3年全生存率: 89.0%
 5年全生存率: 88.2%
 10年全生存率: 87.2%
 15年全生存率: 86.2%
 20年全生存率: 85.1%

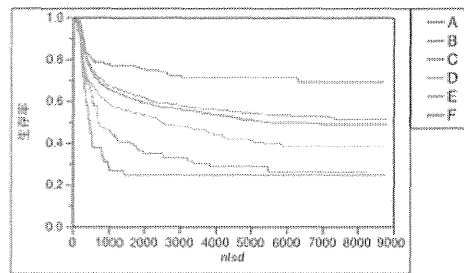
自己肝生存率曲線(病型別)



20年自己肝生存率
 I: 52.5%
 I-cyst: 78.4%
 II: 74.7%
 III: 45.3%

log-rank test $p=0.0023$

自己肝生存率曲線(初回手術日令別)



20年自己肝生存率
 A (- 30): 69.0%
 B (31-60): 52.1%
 C (61-90): 49.0%
 D (91-120): 38.6%
 E (121-150): 26.1%
 F (151-): 24.4%

log-rank test $p<0.0001$

図2 胆道閉鎖症全国登録における最近の1型・2型症例

