

201415057A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)

乳児劇症肝不全の新しい重症度分類の確立に関する研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小林 健一郎

平成 27 (2015) 年 3 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

- 乳児劇症肝不全の新しい重症度分類の確立に関する研究 ----- 1  
小林健一郎

### II. 分担研究報告

1. 小児肝移植オンラインシステムの整備と日本肝移植研究会を通じた  
全国規模の疫学調査に関する研究 ----- 5  
笠原群生
2. 小児肝移植オンラインシステムの整備と乳児劇症肝不全  
臨床病理学的解析----- 9  
中澤温子
3. 乳児劇症肝不全の臨床病理学的解析とその新しい重症度分類の確立-- 13  
小林健一郎

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 17

### IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 19

## 乳児劇症肝不全の新しい重症度分類の確立

研究代表者：小林健一郎 国立成育医療研究センター 造血腫瘍発生研究室 室長

**研究要旨** 本邦の乳児劇症肝不全の実態把握とその臨床病態の解明に基づく新しい重症度分類の確立を目的に、臓器移植センター、病理診断部、研究所のシームレスな連携体制で研究を実施し以下の成果を得た。

### 1) 本邦の乳児劇症肝不全の実態調査にむけた小児肝移植オンラインシステムの整備

成育医療研究センターでは、平成 25 年 1 月から肝移植例の治療成績の把握のためにオンライン登録を開始した。平成 27 年 3 月 27 日の時点で登録例数（レシピエント）は 305 例である。このうち転帰が判明している 253 例の累積生存率は  $90.1 \pm 2.1\%$ （胆汁うっ滞性疾患  $93.3 \pm 2.2\%$ 、代謝性疾患  $93.4 \pm 3.7\%$ 、急性肝不全  $79.9 \pm 7.2\%$ ）であった。追跡調査では、身長が $-2SD$ 以下の例が 17.6%、体重が $+2SD$ を超える例が 11.8%にみられた。長期予後では 76.6%の例で通常の就労・就学（学齢期以前では正常な成長）と判定されており、難病を克服したあとの QOL の実態を明らかにすることができた。

### 2) 劇症肝不全の新しい重症度分類の確立

劇症肝不全の新しいバイオマーカーであるサイトカイン X とその組織傷害活性を制御する分子群の基礎知見に基づき、その臨床的意義を検証した。その結果、劇症肝不全の肝組織中の炎症性サイトカイン X とそれを分解する肝酵素 Y の発現度で、亜急性、急性、超急性型の臨床病型が層別化できることが判明した。今後、この客観的指標を導入することで本症に対する確度の高い診断が可能になると考える。肝酵素 Y は炎症性サイトカイン X を分解して、その肝傷害性をリセットするが、劇症肝不全症例ではその発現レベルが極低値であることを見出している。このことは X を標的とした酵素 Y の補充が病態特異的な分子標的治療になる可能性を示唆している。

## 研究分担者

笠原 群生 国立成育医療研究センター  
臓器移植センター センター長  
中澤 温子 国立成育医療研究センター  
病理診断部 部長

であった。全症例の生存率は 1 歳未満で 54%、1 歳以上で 76%であった。

本邦での小児肝移植症例が年間で約 100 例であり、当センターでは本邦全体の 50%の肝移植医療を実施している。乳児劇症肝不全症例の肝移植は国立成育医療研究センターに集約化される傾向にあり、その生存率は 90%を超えている。この理由として、病初期から持続腹膜透析や血漿交換などの血液浄化療法を積極的に行っていることがその一因と考えられる。さらに、平成 25 年 1 月からは肝移植例の治療成績の把握のためのオンライン登録を開始しており、希少難病の患者データベースの整備をすすめ、新規治療法の開発・実用化を目指すための研究基盤の整備を行っている。本研究は、小児期の劇症肝不全の実態把握と臨床病態の解明に基づく新しい重症度分類の確立とを目的とする。

## A. 研究目的

国立成育医療センターでは 2005 年 10 月から生体肝移植医療を開始し、2014 年 12 月末までのべ 310 例の生体肝移植を施術してきた。小児劇症肝不全は、肝疾患の既往がないにも関わらず急激に肝機能が急激に低下し、多臓器不全や脳症等の生命の危険を伴う希少難病である。1995 年から 2005 年の調査結果では、小児劇症肝不全の発生率は年間平均 9.3 例で、そのうち原因不明例が 43%であったと報告されている。肝移植に至った症例は 1 歳未満で 73%、1 歳以上で 75%

## B. 研究方法

小児肝移植オンラインシステムに基づき本邦における実態調査を行う。国立成育医療センターで施行された小児肝移植症例の臨床病理学的データを集計・分析する。

(倫理面への配慮)

小児肝移植オンライン登録システムには、現在、九州大学、京都大学、熊本大学、慶應義塾大学、自治医科大学、福島県立医科大学、藤田保健衛生大学、国立成育医療研究センターの計8施設が登録されている。データ管理は、国立成育医療センター登録事務局で個人情報保護に係る体制の整備、資料の保存および利用等に関する措置が行われ、連結可能匿名化されている。本研究結果の公表は、集団の解析結果のみとし、個人が特定される情報は一切公表されない。また、臨床研究データに関するネットワークおよびシステムセキュリティは確保済である。ヒト試料を使用する研究については、成育医療研究センターで「生体肝移植時に生じる余剰肝等からのヒト肝細胞の分離・保存：受付番号385」および小児劇症肝不全の病態解明に関する研究(課題番号466)の倫理承認を経て、臨床研究の倫理指針と個人情報保護法を遵守し研究を実施した。

## C. 研究結果

小児肝移植オンラインシステムの整備と日本肝移植研究会を通じた全国規模の疫学調査(笠原)

小児肝移植オンラインシステムの平成27年3月27日の時点で登録例数(レシピエント)は305例である。このうち転帰が判明している253例の累積生存率は $90.1 \pm 2.1\%$ (原疾患で頻度の高かった胆汁うっ滞性疾患では $93.3 \pm 2.2\%$ 、代謝性疾患では $93.4 \pm 3.7\%$ 、急性肝不全では $79.9 \pm 7.2\%$ )であった。追跡調査では身長が $-2SD$ 以下の例が $17.6\%$ 、体重が $+2SD$ を超える例が $11.8\%$ にみられた。長期予後では $76.6\%$ の例で通常の就労・就学(学齢期以前では正常な成長)と判定されており、難病を克服したあとのQOLの実態を明らかにすることができた。急性期治療から退院後フォローアップ調

査を行うことで難病患者データの精度向上と、患者家族の支援に資するデータが集積されつつある。

小児肝移植オンラインシステムの整備と乳児劇症肝不全の臨床病理学的解析(中澤)

当センターは世界最多の小児肝移植手術の臨床実績を誇り、良好な治療成績を得ている。それに伴い病理診断部でもドナー肝を含めて累積500症例の臨床診断と診断時の余剰検体の保管管理を行ってきた。小児肝不全の更なる予後の改善には革新的な移植治療方法の確立とそれを支える高い診断技術の開発とが望まれる。当研究班では劇症肝不全の病態特異的なバイオマーカーの探索を行い、間質細胞が産生する炎症性サイトカインXが本症の病態を制御する重症度マーカーであることを臨床病理学的見地から明らかとすることができた。今後は、サイトカインXの発現度(客観的指標)に基づく病態把握で、より確度の高い治療方針の決定が可能になる。

乳児劇症肝不全の臨床病理学的解析とその新しい重症度分類の確立(小林)

当分担研究では分子病態の解明と、それに基づく分子標的治療の理論的構築を目指す。サイトカインXを介した炎症カスケードの制御が本症の治療成績の改善に繋がる可能性が強く示唆されたため、サイトカインXのその組織傷害活性を制御する分子群の探索を行った。その結果、セリンプロテアーゼ活性を有する肝酵素Yが、サイトカインXのN末端アミノ酸を切断して、その細胞傷害性をリセットすることを見出した。平成26年度はサイトカインXとそれを分解する肝酵素Yの発現度に基づく“新しい重症度分類(組織診断)”の構築に成功した。この成果は、“サイトカインXに対する酵素Y補充療法”という新しい分子標的治療のコンパニオン診断への応用が期待される。また、サイトカインXと肝酵素Yとはいずれもパラフィン固定標本を用いた後方視的な臨床病理学的な解析が可能であり、過去の症例の再整理にも有用である。

#### D. 考察

(1) 小児肝移植データベースの特徴として、小児肝移植医療の実態把握のみならず、その後の小児の成長・発達フォローアップデータ評価項目を充実させた点が挙げられる。途中段階ではあるが、肝移植例の実態把握と病気を乗り越えた後の成長発達への影響、就学(就労)状況が明らかとなりつつあり、本データベースの目指す臨床的意義が示唆された。近年、集学的治療の進歩で劇症肝不全を含めた難病希少疾患の生命予後は飛躍的に改善してきた。更なるQOLの改善のためには精度の高いフォローアップデータの集積が望まれる。この情報を患者家族に還元することで、退院後の生活指導や教育および福祉への情報提供が図られ、包括的な患者支援に繋がることを期待できる。

(2) 劇症肝不全は臨床的多様性があるが、発症に至る時間経過(急性経過)とその重症度には一定の相関があると考えられる。英国の診断基準では黄疸発症から肝性脳症までの時間経過に基づき病型分類が行われている。小児劇症肝不全で、発症から肝移植が施行される期間(0~7日間、8~28日間、29~72日間)に基づき病型分類を行い、急性度と肝組織中のサイトカインXとの相関解析をした。その結果、急性度とサイトカインXとに強い相関を認めた。

(3) 国立成育医療センターは、世界トップレベルの肝移植実施症例と高い治療成績を誇る。今後とも、世界屈指の臨床成績を維持するには、我が国随一のナショナル・センターとして臨床研究を推進するべく臓器移植センター、病理診断部、研究所とがシームレスが連携を行う必要がある(図1)。

(4) 本研究成果は、新しい診断薬および治療薬の開発に繋がる可能性がある。そこで、平成26年度の研究成果は“劇症肝不全の診断方法、及び予防又は治療剤”として特許出願を行う方針とした。

#### E. 結論

小児肝移植のオンライン登録と追跡調査システムではQOL関連の項目を充実させており、患者家族への情報発信及び患者支援に資する精度の高いデータベースとして利活用できる。

本研究を通じた病態研究で“新しい重症度分類”を構築することができた。客観的な指標に基づく病勢評価で、患者および家族への病状説明ならびに肝移植のドナー確保等の救命の連鎖(chain of survival)をさらに円滑に進めることが期待される。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

発表の詳細は分担研究報告を参照のこと。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

##### 1. 特許取得

劇症肝不全の診断方法、及び予防又は治療剤として特許出願予定である。

##### 2. 実用新案登録

なし。

##### 3. その他

なし。

既存の研究インフラと診療ネットワークを統合して  
難治希少疾患の新しい重症度分類を確立する。



図1 本研究班の実施体制

## 小児肝移植オンラインシステムの整備と日本肝移植研究会を通じた全国規模の疫学調査

研究分担者：笠原群生 国立成育医療研究センター 臓器移植センター  
研究協力者：福田晃也 国立成育医療研究センター 臓器移植センター  
研究協力者：重田孝信 国立成育医療研究センター 臓器移植センター  
研究協力者：瀧本哲也 国立成育医療研究センター 臨床研究開発センターデータ管理部

**研究要旨** 国立成育医療センターでは、2005年10月以降、2014年12月末までに310例の生体肝移植医療を実施してきた。本分担研究では、小児肝移植オンラインシステムに基づく本邦における小児肝移植後の実態把握と長期フォローアップ調査を目指している。平成27年3月27日の時点で登録例数（レシピエント）は305例（重複移植の7例含む）で、このうち転帰が判明している253例の累積生存率は $90.1 \pm 2.1\%$ （原疾患で頻度の高かった胆汁うっ滞性疾患では $93.3 \pm 2.2\%$ 、代謝性疾患では $93.4 \pm 3.7\%$ 、急性肝不全では $79.9 \pm 7.2\%$ ）であった。このオンラインシステムでは小児肝移植後のQOLを含めた調査項目も含まれており、患者家族への情報発信及び患者支援に資する精度の高いデータベースとして利活用できる。

### A. 研究目的

国立成育医療研究センターは、平成25年1月1日から肝移植の治療成績の把握のためのオンライン登録システムを開始した。このシステムでは、臨床情報の連結可能匿名化と資料の保存及び利用に関する措置がなされ、追跡調査によるフォローアップデータの収集が可能である。本研究では、移植後の成長発達の評価までを含む小児肝移植の実態を明らかにすることを最終目標としている。

### B. 研究方法

小児肝移植データベースオンライン登録システムに登録されたデータを集計・分析する。

（倫理面への配慮）

小児肝移植オンライン登録システムは、現在、九州大学、京都大学、熊本大学、慶應義塾大学、自治医科大学、福島県立医科大学、藤田保健衛生大学、国立成育医療研究センターの計8施設が登録されている。データ管理は、国立成育医療センター登録事務局で個人情報保護に係る体制の整備、資料の保存及び利用等に関する措置が行われ、連結可能匿名化されている。本研究結果の公表は、集団の解析結果のみとし、個人が特定される情報は一切公表されない。また、臨床研究データに関するネットワークおよびシ

ステムセキュリティは確保済である。

### C. 研究結果

小児肝移植オンライン登録の登録状況は平成27年3月27日の時点で登録例数（レシピエント）305例（重複移植の7例含む）、うち男児135例、女児170例である。このうち301例が当センター、4例が外部施設からの登録であった。重複移植7例を除く298例の原因疾患は胆汁うっ滞性疾患161例（54.0%）、代謝性疾患56例（18.8%）、急性肝不全51例（17.1%）、腫瘍性疾患12例（4.0%）、血管性病変9例（3.0%）、肝細胞性疾患（肝硬変）7例（2.3%）、その他2例（0.7%）であった。移植時の年齢分布は1歳未満139例（46.6%）、1～3歳未満62例（20.8%）、3～5歳未満23例（7.7%）、5～10歳未満42例（14.1%）、10歳以上32例（10.7%）と半数近くが1歳未満であった。グラフは290例が生体肝、脳死肝が8例（複数回移植例を除く）であった。血液型適合度は一致181例（60.7%）、適合66例（22.1%）、不適合51例（17.1%）であった。

全登録例305例のうち、転帰情報が不明の例を除く253例の累積生存率は $90.1 \pm 2.1\%$ （95%信頼区間85.1～93.4%）であった（図1）。死亡例の内訳は敗血症16例、慢性拒絶反応1例、

肝不全 1 例、手術合併症 1 例、原病再発 1 例、肺線維症による呼吸不全 1 例、RDS 1 例、悪性腫瘍 1 例であった。また、追跡調査で身長、体重のデータが得られた 17 例では、身長が $-2SD$ 以下の例が 3/17 例 (17.6%)、体重が $\pm 2SD$ を超える例が 2/17 例 (11.8%) に認めた。

QOL データを得た 77 例のうち、59 例 (76.6%) すなわち 3/4 以上の症例で常時の就労・就学 (学齢期以前では正常な成長) であった。それ以外の 18 名の現状は、入院中 5 例、パートタイムの就労/常時の就学不能 (学齢期以前では成長低下) が 4 例、不明 9 例であった。

#### D. 考察

小児肝移植データベースの特徴として、小児肝移植医療の実態把握のみならず、肝移植後のフォローアップデータ評価項目を充実させた点が挙げられる。本分担研究で、途中解析の段階ではあるが、肝移植後の QOL (成長発達への影響、就学(就労)状況) が明らかとなり、本データベースの目指す臨床的意義が示唆された。

近年、集学的治療の進歩で劇症肝不全を含めた難病希少疾患の生命予後は飛躍的に改善してきた。更なる QOL の改善のためには精度の高いフォローアップデータの集積が望まれる。この情報を患者家族に還元することで、退院後の生活指導や教育および福祉への情報提供が図られ、包括的な患者支援に繋がることを期待できる。

#### E. 結論

平成 25 年 1 月から開始された小児肝移植のオンライン登録は 305 例の登録 (レシピエント) が得られている。今後さらに登録を促進することによって、小児における肝移植の実態解明に有用なデータベースの構築が期待される。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Fukuda A, Sakamoto S, Shigeta T, Uchida H, Hamano I, Sasaki K, Kanazawa H, Dale Loh,

Takee N, Nakazawa A, Kasahara M. Clinical outcomes and evaluation of the quality of life of living donors for pediatric liver transplantation: A single center analysis of 100 donors. *Transplant Proc* 2014, 46:1371-1376

2) Uchida H, Sakamoto S, Kasahara M. Central pontine myelinolysis following pediatric liver transplantation: A case report and review of literature. *Pediatric Transplantation* 2014; 18: E120-123

3) Uchida H, Sakamoto S, Hamano I, Kobayashi M, Kitajima T, Shigeta T, Kanazawa H, Fukuda A, Kasahara M. Urgent living donor liver transplantation for biliary atresia complicated by a strangulated internal hernia at Roux-en Y limb: a case report. *Ann Transplant*. 2014;19:149-152

4) Hatanaka M, Nakazawa A, Nakano N, Matsuoka K, Ikeda H, Hamano I, Sakamoto S, Kasahara M. Successful living donor liver transplantation for giant extensive venous malformation. *Pediatr Transplantation* 2014 May 12

5) Minowa K, Arai K, Kasahara M. Romiplostim Treatment Allows for Platelet Transfusion-free liver Transplantation in Pediatric Thrombocytopenic Patient with Primary Sclerosing Cholangitis. *Pediatr Transplantation* 2014;18(6): 212-215

6) Tsunoda T, Inui A, Kawamoto M, Sogo T, Komatsu H, Kasahara M, Nakazawa A, Fujisawa T. Neonatal liver failure owing to gestational alloimmune liver disease without iron overload. *Hepatology Reserch* 2014 Jun 30

7) Uchida H, Sakamoto S, Matsunami M, Sasaki K, Shigeta T, Kanazawa H, Fukuda A, Nakazawa A, Miyazaki O, Nosaka S, Kasahara M. Hepatic artery reconstruction preserving the pancreaticoduodenal arcade in pediatric

liver transplantation with celiac axis compression syndrome: Report of a case.

Pediatr Transplant. 2014 Nov 18: E232-235

8) Kanazawa H, Sakamoto S, Matsunami M, Sasaki K, Uchida H, Shigeta T, Fukuda A, Matsumoto K, Nakazawa A, Tanaka R, Kasahara M.

Technical refinement in living-donor liver transplantation for hepatoblastoma with main portal vein tumor thrombosis - a pullout technique. Pediatr Transplant. 2014 Sep 11

9) Fukuda A, Imadome KI, Sakamoto S, Shigeta T, Uchida H, Matsunami M, Sasaki K, Kanazawa H, Kawano F, Nakazawa A, Fujiwara S, Kasahara M. Evaluation of the immune function assay in pediatric living donor liver transplantation. Pediatr Transplant. 2015;19(2):144-152.

10) Nakazawa A, Nakano N, Fukuda A, Sakamoto S, Imadome K, Kudo T, Matsuoka K, Kasahara M.

Use of serial assessment of disease severity and liver biopsy for indication for liver transplantation in pediatric Epstein-Barr virus-induced fulminant hepatic failure. Liver Transpl. 2015 Mar;21(3):362-8.

## 2. 学会発表

1) Kasahara M. Liver Transplantation for Neonates. International Liver Transplantation Society, June 4-6, London, UK, 2014

2) Kasahara M. Living donor liver transplantation for pediatric patients with metabolic disorders: The Japanese Multicenter Registry. World Transplant Congress. San Francisco, USA, July 28-30, 2014

3) Kasahara M. How to use hyper reduced or monosegment graft in living donor liver transplantation. 1st Living donor liver transplantation meeting. Seoul, Korea, November 7-8, 2014

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

## 1. 特許取得

なし。

## 2. 実用新案登録

なし。

## 3. その他

なし。

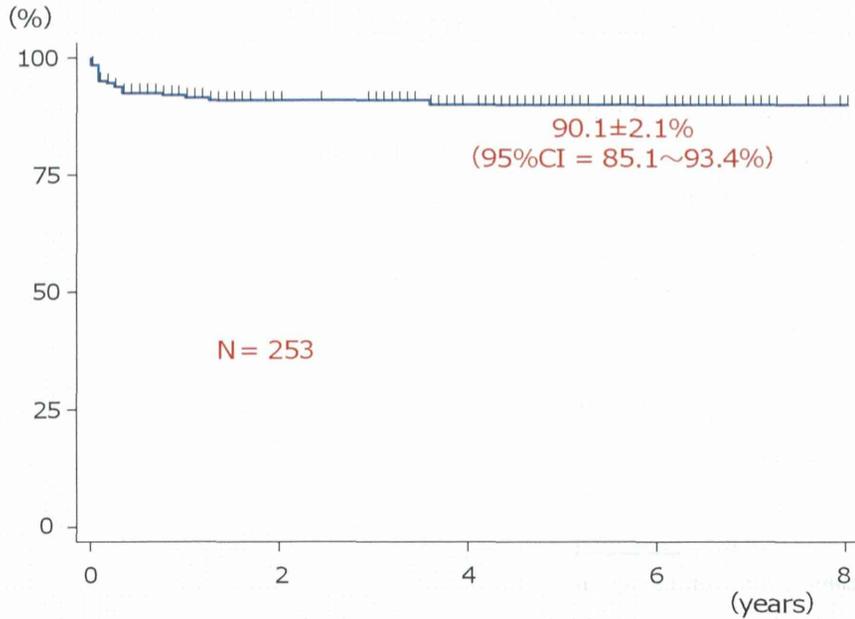


図 1. 肝移植症例の累積生存曲線

生存率を原疾患別にみると、胆汁うっ滞性疾患 93.3 ± 2.2% (87.5 ~ 96.5%)、代謝性疾患 93.4 ± 3.7% (81.0 ~ 97.8%)、急性肝不全 79.9 ± 7.2% (61.0 ~ 90.3%)、腫瘍性疾患 37.5 ± 28.6% (1.1 ~ 80.8%)、血管性疾患 85.7 ± 13.2% (33.4 ~ 97.9%)、肝細胞性疾患 (肝硬変)・その他 100% であった。

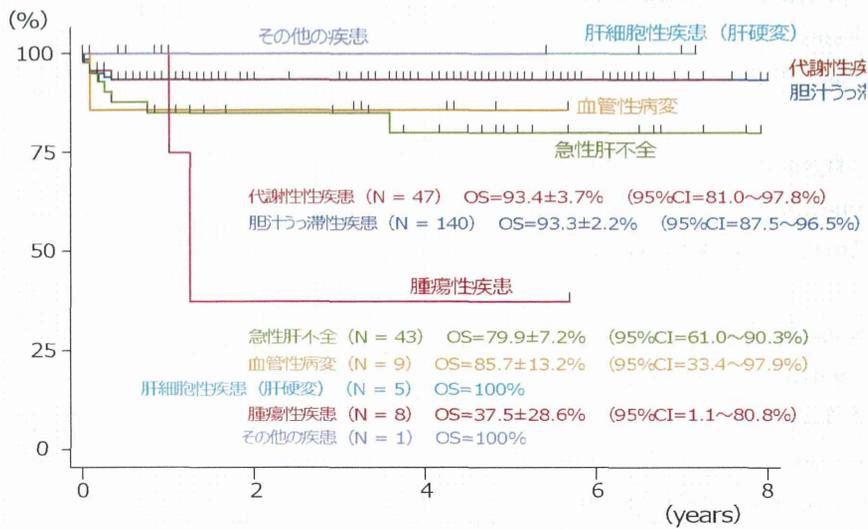


図 2. 原疾患別の累積生存曲線

## 小児肝移植オンラインシステムの整備と乳児劇症肝不全の臨床病理学的解析

研究分担者：中澤温子 国立成育医療研究センター 病理診断  
研究協力者：辰野美知子 国立成育医療研究センター 病理診断部  
研究協力者：小野ひろみ 国立成育医療研究センター 病理診断部

**研究要旨** 国立成育医療センターでは、2005年10月以降、2014年12月末までに310例の生体肝移植医療を実施し、病理診断部でもドナー肝を含めて累積500症例の臨床診断と診断時の余剰検体の保管管理を行ってきた。当センターは、世界最多の小児肝移植手術の臨床実績を誇るが、依然として移植適応判断・術後管理・免疫抑制治療には難渋する症例も多いのが現状である。今後とも、世界屈指の臨床成績を維持するには、我が国随一の小児のナショナル・センターとして臨床研究を継続する必要がある。本研究班では、病理診断部、臓器移植センター、研究所とがシームレスに連携して、劇症肝不全の新しいバイオマーカーであるサイトカインXの同定に成功した。今後、この客観的指標を導入することで、確度の高い診断が可能になると考える。

### A. 研究目的

国立成育医療センターでは、2005年10月から生体肝移植医療を開始し、2014年12月末までのべ310例の生体肝移植を施術してきた。本邦での小児肝移植症例は年間約100例で、当センターではその50%を実施している。本分担研究は、国立成育医療研究センターで施行された小児肝移植の臨床病理学的研究の基盤整備を目的としている。

### B. 研究方法

国立成育医療センターで施行された小児肝移植症例のデータを集計・分析する。

(倫理面への配慮)

ヒト試料を使用する研究については、すでに成育医療研究センターで「生体肝移植時に生じる余剰肝等からのヒト肝細胞の分離・保存：受付番号385」および小児劇症肝不全の病態解明に関する研究(課題番号466)の倫理承認済みであり、臨床研究の倫理指針と個人情報保護法を遵守し研究を実施した。

### C. 研究結果

2005年11月18日に最初の肝移植を開始し、漸次症例数が蓄積されている(図1&2)。

この間に特筆すべきこととして、他施設からの劇症肝不全の紹介が増えてきたことが挙げら

れる。その理由として、血漿交換、免疫抑制療法、肝移植の集学的治療により救命される治療実績と、病理診断の診断技術の高さがその要因であると考えられる。このことは、難病希少疾患の診療インフラの集約化で更なる治療成績の向上を目指す本邦の行政的課題に対する一つのモデルケースになったと考える。肝不全の臨床診断では、血清生化学検査が必ずしも病勢を反映しないため、移植適応判断、移植片拒絶、敗血症性胆管炎、肝静脈閉塞症等の多彩な病態に対する治療方針には病理診断は必須であり、本症の集学的治療を進めるうえで病理部門の果たすべき役割は大きい。

劇症肝不全の新しいバイオマーカー：

劇症肝不全は、急激な肝細胞死で重篤な肝機能障害と多臓器不全を呈する症候群である。摘出肝の病理学的検索では、高度の肝実質の出血壊死により80%以上の肝細胞の脱落を認める。本研究班で見出された新しいバイオマーカーであるサイトカインXは間質が産生する細胞障害因子であり、間質から肝実質へパラクライン作用により本症に特徴的な急激な肝細胞死を誘導するものと推察される。

サイトカインXは、正常肝および慢性肝不全の門脈域の結合組織に弱く発現するが、それ以外には発現は認めない。興味深いことに、劇症肝不全では肝中心静脈の血管壁とその周囲の結

合組織に強発現し、その発現度は血管傷害の重症度と相関していた。この病理所見は、劇症肝不全の病態特異的であるとともに、肝中心静脈の血管傷害と本症の重症度は一定の相関があることから、サイトカイン X は臨床病理学的な観点からも本症の病勢を制御する重要な因子であると考えられる(図3)。

#### D. 考察

(1) 国立成育医療センターは肝移植実施数として、世界トップレベルの肝移植実施症例と高い治療成績を誇る。原疾患として胆汁うっ滞性疾患、代謝性疾患、急性肝不全が多いことは小児における一般的な傾向であるが、そのうち代謝性疾患と急性肝不全は、高い診断・移植技術を要することから当センターに集積されている。併せて他施設からの病理コンサルテーションの依頼数も漸次増加している。しかし、限られた診療体制の中での対応にも限界があるため、病理セントラル・レビュー体制については更なるシステム化が必要となる。

(2) サイトカイン X の特徴的な発現局在と、その細胞生物学的特徴を踏まえると、この新しいバイオマーカーは移植後に遭遇する移植片拒絶や肝静脈閉塞症の病態にも関与している可能性が示唆された。

(3) 小児は成人と比べて肝再生能力が高いことが知られているが、サイトカイン X の発現解析だけでは肝再生能力の予測は不十分である。さらに確度の高い移植的適応の判定では、肝胆管細胞の前駆細胞のマーカーを組み合わせた診断システムの構築が望まれる。

#### E. 結論

当センターは世界最多の小児肝移植手術の臨床実績を誇るが、依然として移植適応判断・術後管理・免疫抑制治療に難渋する症例も多いのが現状である。今後とも、世界屈指の臨床成績の維持には、我が国随一のナショナル・センターとして臓器移植センター、病理診断部、そして研究所のシームレスな連携での臨床研究の推進が肝要である。さらには、小児肝移植データ

ベースのオンライン登録の臨床情報との相関解析を促進させ、小児肝不全の実態解明に有用な多層的なデータベースの構築が期待される。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Tsunoda T, Inui A, Kawamoto M, Sogo T, Komatsu H, Kasahara M, Nakazawa A, Fujisawa T. Neonatal liver failure owing to gestational alloimmune liver disease without iron overload. *Hepatology research*. [Epub ahead of print]

2) Minowa K, Arai K, Kasahara M, Sakamoto S, Shimizu H, Nakano N, Ito R, Obayashi N, Nakazawa A, Ishiguro A: Romiplostim treatment allows for platelet transfusion-free liver transplantation in pediatric thrombocytopenic patient with primary sclerosing cholangitis. *Pediatric Transplantation*, 2014;18:E212-E215

3) Nakazawa A, Nakano N, Fukuda A, Sakamoto S, Imadome K, Kudo T, Matsuoka K, and Kasahara M. Use of Serial Assessment of Disease Severity and Liver Biopsy for Indication for Liver Transplantation in Pediatric Epstein-Barr Virus-Induced Fulminant Hepatic Failure. *LIVER TRANSPLANTATION* 21:362-368, 2015

##### 2. 学会発表

1) Nakazawa A, Nakano N, Matsuoka K, Imadome K, Sakamoto S, Kasahara M : Pathology of Pediatric EBV-induced Fulminant Hepatic Failure-A Critical Indication for Liver Transplantation-. The 2014 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE. London, 2014. 6. 4

2) 中野夏子、中澤温子、入江理恵、羽賀

千都子、大喜多肇、岩淵英人、松岡健太郎、中村直哉：EBウイルス感染により重症肝不全をきたした4例。第103回日本病理学会総会，広島，2014.4.24

3) 入江理恵，中澤温子，坂田佳子，中野夏子，岩淵英人，大喜多肇，松岡健太郎，福田晃也，阪本靖介，笠原群生：拒絶に対する治療に反応せずグラフト不全となった小児特発性劇症肝不全の1例。第32回日本肝移植研究会，東京，2014.7.4

4) 入江理恵，中澤温子，中野夏子，岩淵英人，大喜多肇，松岡健太郎：肝移植後拒絶に対する治療に不応性の小児特発性劇症肝不全症例の病態に関する検討。第60回日本病理学会秋季特別総会，沖縄，2014.11.20

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

##### 1. 特許取得

劇症肝不全の診断方法、及び予防又は治療剤として特許出願予定

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

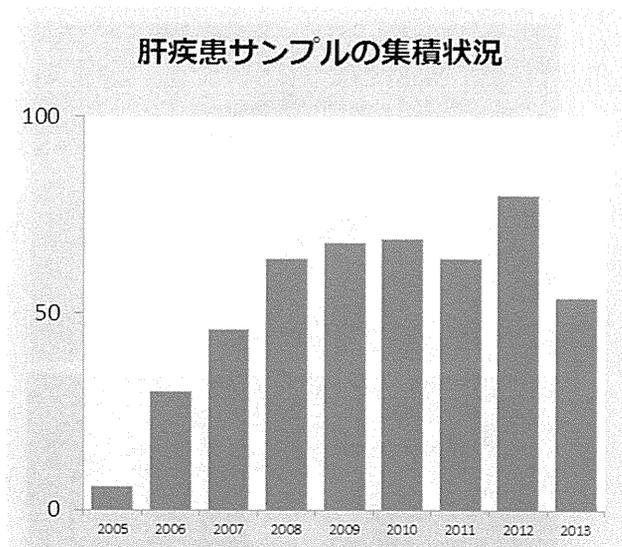


図1. 蓄積症例の年次推移

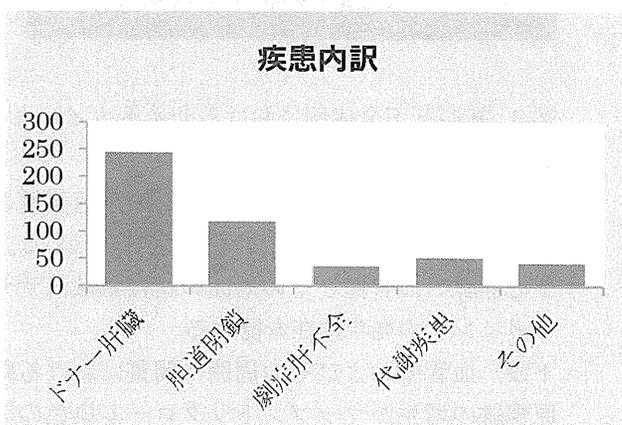


図2. 疾患内訳

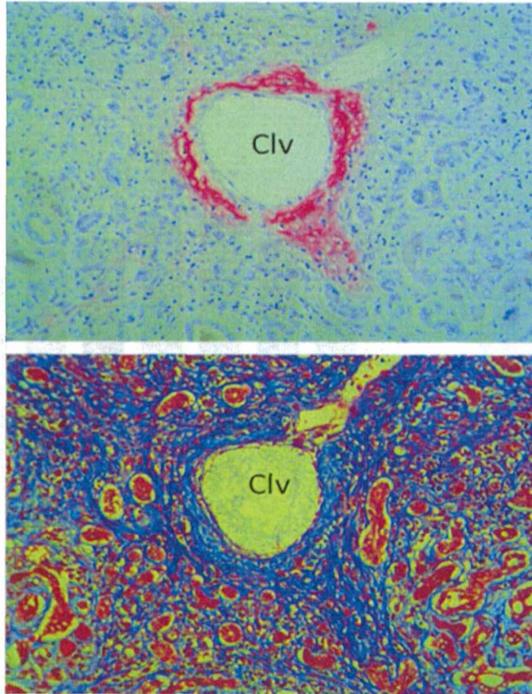


図3. 劇症肝不全症例におけるサイトカイン X  
の免疫組織学的検討  
上段) アルカリフォスファターゼの発色基質と  
してニューフクシンを用いて赤色で検出した。  
中心静脈の血管壁とその周囲の結合組織にサイ  
トカイン X の発現局在を認める。  
下段) 血管壁およびその周囲の間質における膠  
原線維の増生がマッソントリクローム染色のア  
ニリン青で検出される。

## 乳児劇症肝不全の臨床病理学的解析とその新しい重症度分類の確立

研究分担者：小林健一郎 国立成育医療研究センター研究所小児血液腫瘍研究部

研究協力者：岡田容子 国立成育医療研究センター研究所小児血液腫瘍研究部

**研究要旨** 劇症肝不全は、急激な経過で肝機能傷害と多臓器不全とを呈する致死率の高い難病である。本研究では、新しいバイオマーカーであるサイトカイン X の臨床的意義を検証した。その結果、本症の急性度と肝組織中のサイトカイン X 濃度とに強い相関を認めた。サイトカイン X は、肝中心静脈の血管壁とその周囲の結合組織に強発現し、その発現度は血管傷害の重症度と相関していた。

サイトカイン X の分解酵素である肝酵素 Y は、慢性肝不全では健常者と比較して高値であるが、劇症肝不全では極低値であった。このことが、劇症肝不全ではサイトカイン X が分解されず異常高値が遷延する原因の一つと考えた。肝酵素 Y は炎症性サイトカイン X の N 末端アミノ酸を切断することで、その肝傷害性をリセットできるため、酵素 Y 補充療法が本症に対する分子標的治療になる可能性が示唆された。

### A. 研究目的

小児劇症型肝不全は、成人と異なり肝炎ウイルスの関与がまれで、その病態には依然として不明な点が多い。これまで、本症に対して血液浄化療法や肝移植等の集学的治療が積極的に取り組まれているが、乳児症例での救命率は 54% と依然として低い。この理由として、本症の病態メカニズムが依然と不明であること、客観的指標に基づく重症度分類が確立されていないこと、病態特異的な治療介入が不十分であったこと等が挙げられる。当研究の目的は分子病態機構の解明に基づく重症度分類を確立とその臨床的意義の検証にある。

### B. 研究方法

国立成育医療センターで施行された小児肝移植症例のデータを集計・分析する。

(倫理面への配慮)

ヒト試料を使用する研究については、すでに成育医療研究センターで「生体肝移植時に生じる余剰肝等からのヒト肝細胞の分離・保存：受付番号 385」および小児劇症肝不全の病態解明に関する研究(課題番号 466)の倫理承認済みで

あり、臨床研究の倫理指針と個人情報保護法を遵守し研究を実施した。

### C. 研究結果

RayBiotech 社のプロテインアレイを用いて、正常肝臓(生体肝移植ドナー)、小児慢性肝不全、小児劇症肝不全の 3 群の肝組織で炎症性サイトカインの網羅的解析を行い、劇症肝不全に特徴的なケモカインプロファイルを同定した(図 1)。

サイトカイン X は間質細胞が産生する肝細胞アポトーシス誘導因子であり、肝局所ではサイトカイン X のパラクラインな作用による肝実質傷害が劇症肝不全の本態に組み込まれているものと推察された。劇症肝不全では、発症に至る時間経過(急性経過)とその重症度には一定の相関があり、英国の診断基準では黄疸発症から肝性脳症までの時間経過に基づき病型分類が行われている。興味深いことに、発症から肝移植が施行される期間(0~7 日間、8~28 日間、29~72 日間)とサイトカイン X との間に強い相関を認めた。(図 2)。

すでに先行研究では、セリンプロテアーゼ活性を有する肝酵素 Y が、サイトカイン X の N 末端アミノ酸を切断して、その細胞傷害性をリセ

ットすることを見出している。そこで、サイトカイン X とそれを分解する肝酵素 Y の発現度に基づく“新しい重症度分類(組織診断)”を構築した(図 3)。この成果は、“サイトカイン X に対する酵素 Y 補充療法”という新しい分子標的治療のコンパニオン診断への応用が期待される。

#### D. 考察

(1) サイトカイン X と肝酵素 Y の発現度に基づく乳児劇症肝不全の新しい重症度分類では劇症肝不全の患者を健常者や慢性肝不全から識別することが可能で、急性度のバイオマーカーとして活用できる。本症は急激な経過で多臓器不全に陥る難病であり、客観的指標に基づく重症度の評価を行うことは、患者家族への病状説明、肝移植施設への救急搬送、肝移植のドナー確保等の救命の連鎖(chain of survival)をさらに円滑に進めることが期待される。また、確度の高い治療方針の決定により本症の予後を大きく改善できる可能性がある。

#### E. 結論

平成 26 年度は、病態特異的な分子病態機構の解明に基づく”新しい重症度分類”の確立と分子標的治療の理論的構築ができた。平成 27 年度は、その臨床的意義の確立のために、症例数を増やしてその臨床的意義を多角的に検証することにした。

サイトカイン X と肝酵素 Y とはいずれもパラフィン固定標本を用いた後方視的な臨床病理学的な解析が可能であり、過去の症例の再整理にも有用である。本研究をきっかけとして小児肝不全病態の理解が進むことが期待できる。

[参考文献]

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

##### 1. 特許取得

劇症肝不全の診断方法、及び予防又は治療薬剤として特許出願予定である。

##### 2. 実用新案登録

なし。

##### 3. その他

なし。

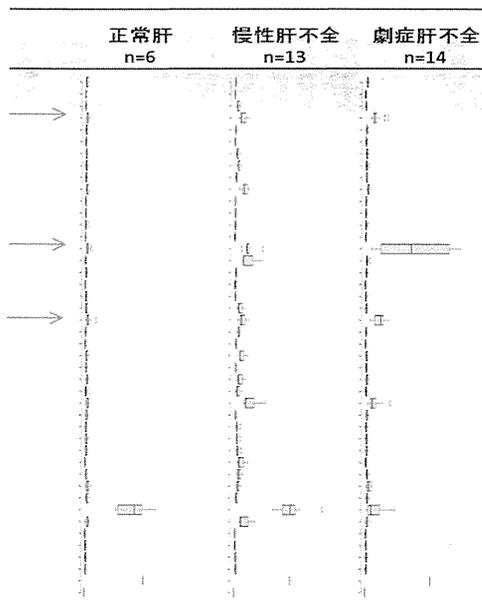


図 1

正常肝臓(生体肝移植ドナー)、小児慢性肝不全、小児劇症肝不全の3群の肝組織で炎症性サイトカインの網羅的解析を行い、劇症肝不全に特徴的なサイトカインプロファイルを認めた。本症で有意に上昇したサイトカインを矢印で示す。

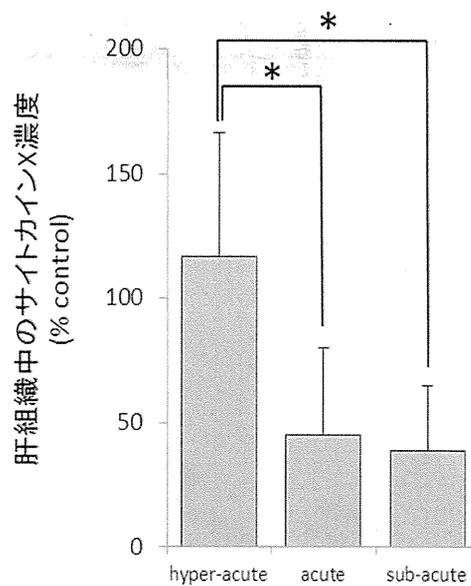
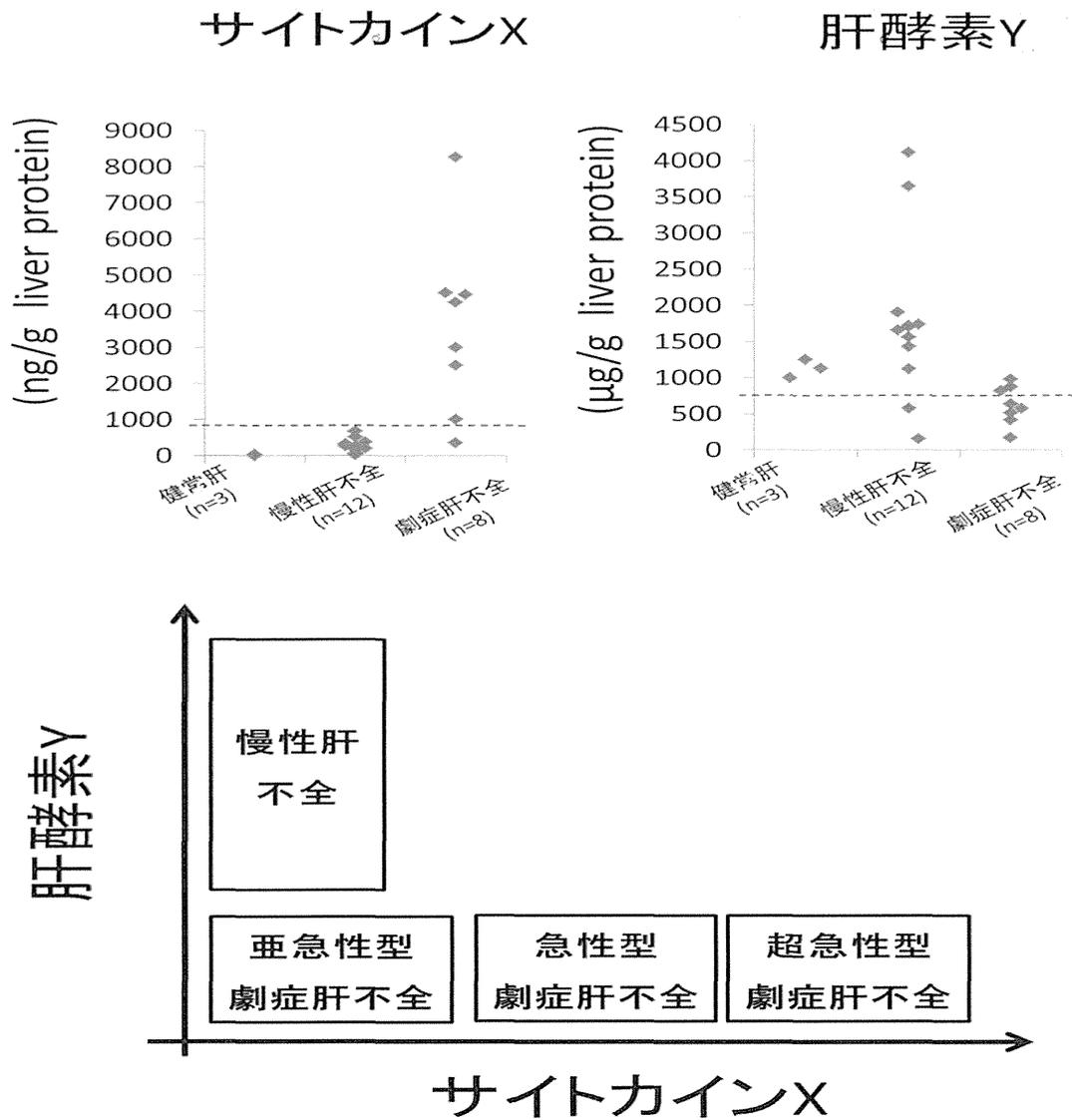


図 2

サイトカイン X と病型との関連性。発症から肝移植が施行される期間(0~7 日間, hyper-acute; 8~28 日間, acute; 29~72 日間, sub-acute) とサイトカイン X との間に強い相関を認めた。



肝組織中のサイトカインXと肝酵素Y濃度を2次元でプロットすると各病型に細分類できる。

図3 (上段) 健康肝、慢性肝不全及び劇症肝不全の肝組織中のサイトカイン X (左) 及び肝酵素 Y 濃度 (右) を示す。劇症肝不全では肝組織中のサイトカイン X 濃度が上昇するが、肝酵素 Y 濃度は著減する。  
(下段) 劇症肝不全 (超急性、亜急性、急性) 及び慢性肝不全の肝組織におけるサイトカイン X 濃度及び肝酵素 Y の分布を示す。

研究成果の刊行に関する一覧表

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
Fukuda A, Sakamoto S, Shigeta T, Uchida H, Hamano I, Sasaki K, Kanazawa H, Dale Loh, Kakee N, Nakazawa A, Kasahara M	Clinical outcomes and evaluation of the quality of life of living donors for pediatric liver transplantation: A single center analysis of 100 donors.	Transplant Proc	46	1371-6	2014
Minowa K, Arai K, Kasahara M, Sakamoto S, Shimizu H, Nakano N, Ito R, Obayashi N, Nakazawa A, Ishiguro A	Romiplostim treatment allows for platelet transfusion-free liver transplantation in pediatric thrombocytopenic patient with primary sclerosing cholangitis	Pediatr Transplant	18	E212-5	2014
Hatanaka M, Nakazawa A, Nakano N, Matsuoka K, Ikeda H, Hamano I, Sakamoto S, Kasahara M.	Successful living donor liver transplantation for giant extensive venous malformation.	Pediatr Transplant	18	E152-6.	2014
Uchida H, Sakamoto S, Matsunami M, Sasaki K, Shigeta T, Kanazawa H, Fukuda A, Nakazawa A, Miyazaki O, Nosaka S, Kasahara M.	Hepatic artery reconstruction preserving the pancreaticoduodenal arcade in pediatric liver transplantation with celiac axis compression syndrome: report of a case	Pediatr Transplant	18	E232-5.	2014
Kanazawa H, Sakamoto S, Matsunami M, Sasaki K, Uchida H, Shigeta T, Fukuda A, Matsumoto K, Nakazawa A, Tanaka R, Kasahara M	Technical refinement in living-donor liver transplantation for hepatoblastoma with main portal vein tumor thrombosis - a pullout technique	Pediatr Transplant	18	E266-9	2014
Shigeta T, Sakamoto S, Uchida H, Sasaki K, Hamano I, Kanazawa H, Fukuda A, Kawai T, Onodera M, Nakazawa A, Kasahara M.	Basiliximab treatment for steroid-resistant rejection in pediatric patients following liver transplantation for acute liver failure.	Pediatr Transplant	18	E860-7	2014
Sasaki K, Sakamoto S, Uchida H, Shigeta T, Matsunami M, Kanazawa H, Fukuda A, Nakazawa A, Sato M, Ito S, Horikawa R, Yokoi T, Azuma N, Kasahara M.	Two-step transplantation for primary hyperoxaluria: A winning strategy to prevent progression of systemic oxalosis in early onset renal insufficiency cases	Pediatr Transplant	19	E1-6	2015
Fukuda A, Imadome K, Sakamoto S, Shigeta T, Uchida H, Matsunami M, Sasaki K, Kanazawa H, Kawano F, Nakazawa A, Fujiwara S, Kasahara M.	Evaluation of the immune function assay in pediatric living donor liver transplantation	Pediatr Transplant	19	E144-52	2014
Uchida H, Sakamoto S, Hamano I, Kobayashi M, Kitajima T, Shigeta T, Kanazawa H, Fukuda A, Kasahara M.	Urgent living donor liver transplantation for biliary atresia complicated by a strangulated internal hernia at Roux-en Y limb: a case report.	Ann Transplant	19	149-152	2014

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
Tsunoda T, Inui A, Kawamoto M, Sogo T, Komatsu H, Kasahara M, Nakazawa A, Fujisawa T	Neonatal liver failure owing to gestational alloimmune liver disease without iron overload	Hepatol Res	45	601-5	2015
Nakazawa A, Nakano N, Fukuda A, Sakamoto S, Imadome K, Kudo T, Matsuoka K, and Kasahara M	Use of Serial Assessment of Disease Severity and Liver Biopsy for Indication for Liver Transplantation in Pediatric Epstein-Barr Virus-Induced Fulminant Hepatic Failure	Liver Transpl	21	362-8	2015