

平成 24～26 年度厚生労働科学研究費補助金
(肝炎等克服実用化研究事業 (肝炎等克服緊急対策研究事業))
研究分担報告書

**ABMi 療法における血清アルブミン値と生命予後の検討、および C 型肝炎に対する
多施設対照化比較試験の実施に向けた取り組み**

研究分担者 : 上野 義之

所属機関 : 山形大学医学部消化器内科学 職名 : 教授

研究要旨 :

【目的】アルコール性肝硬変患者に対する自己骨髄細胞投与 (Autologous Bone Marrow Cells Infusion: ABMi) 療法を行い、治療後 24 週間ならびに 72 週間に亘る持続的な肝機能改善効果 (血清アルブミン、総蛋白、プロトロンビン活性) について報告してきた。今回、更に長期間の経過観察を行うことで、ABMi 療法施行後の患者の生命予後を明らかにする。また、C 型肝炎患者に対する多施設対照化比較試験に参加するための準備を進める。

【方法】1. 当科で先行研究として ABMi 療法を施行したアルコール性肝硬変患者 5 例について、生命予後ならびに血清アルブミン値と予後の関係を検討した。2. ヒト幹細胞に関わる臨床研究の開始に必要な申請を行った。

【成績】1. アルコール性肝硬変患者 5 例について、ABMi 療法施行後の平均観察期間は 5.05 年 (range: 2.42 年-7.25 年) であった。患者の生命予後は 死亡 2 例、生存 3 例であった。2 例の死因は肝細胞がん、および肝不全・腎不全であった。2. 血清アルブミン値を、ABMi 直前値、最新値 (死亡例は死亡前値) を用いて検討した。生存例 (3 例) では、全例、血清アルブミン最新値が ABMi 直前値に比較し上昇していたが、死亡例 (2 例) では血清アルブミン死亡直前値は ABMi 直前値に比較し低下していた。ABMi 療法施行 4 週後の血清アルブミン値は、生存例 3 例、肝細胞がん発病までは経過良好であった死亡例 1 例で、ABMi 直前値に比較して上昇していた。一方、肝不全・腎不全で死亡した症例では、ABMi 療法施行 4 週後の血清アルブミン値は ABMi 直前値と差が認められなかった。3. C 型肝炎患者に対する多施設対照化比較試験について、平成 26 年 4 月に厚生労働省「ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会」へ研究申請を行い、同年 9 月に研究許可に関する大臣意見を得た。山口大学先進医療 (B) 協力医療機関として申請手続きを進めている。

【考案】アルコール性肝硬変に対する ABMi 療法では、長期生存例では血清アルブミン値の改善が見られることが確認された。また ABMi 療法施行 4 週後の早期の血清アルブミン値の反応が、その後の血清アルブミン値の改善および生命予後を予測する上で有用なマーカーとなり得る可能性がある。今後の臨床研究において検討する価値があるものと思われた。

共同研究者

齋藤貴史 山形大学医学部消化器内科学 准教授

奥本和夫 山形大学医学部消化器内科学 助教

富田恭子 山形大学医学部消化器内科学 大学院

喫緊の課題である。骨髄内には multipotent progenitor cell の存在が知られており、肝再生を目的とした肝硬変患者に対する自己骨髄細胞移植 (Autologous Bone Marrow Cells Infusion: ABMi) 療法が、主に C 型肝炎ウイルスによる非代償性肝硬変患者に対して施行され、24 週間の術後経過において Child-Pugh スコアや血清アルブミン値などの肝機能検査値全般の改善が報告されている (Terai S et al.

A. 目的

生体肝移植に代わる次世代の肝再生療法の開発は、肝硬変患者の生命予後の改善のため

Stem Cell 2006)。

私達は、2006年から2009年にかけて、アルコール性肝硬変患者に対するABMi療法を、山口大学チームとともに当大学医学部附属病院で施行した。ABMi療法を施行されたアルコール性肝硬変5症例の症例対照研究では、24週間にわたり臨床データの改善がみられることを報告した(Stem Cells Dev 2011; 20: 1503-1510)。肝炎ウイルス慢性持続感染のない、アルコール性肝硬変症では、本療法の肝機能改善効果がウイルス性肝疾患よりも期待出来るものと考え、72週間(2年間)の長期間にわたる肝機能検査値の変動を評価した結果、肝機能改善効果(血清アルブミン、総蛋白、プロトロンビン活性)が持続することを確認している。今回、ABMi療法施行患者の生命予後を明らかにするとともに、血清アルブミン値と予後との関係を検討した。また、C型肝硬変患者に対する多施設対照化比較試験に参加するため、ヒト幹細胞に関わる臨床研究を行うための研究組織の整備を行い、厚生労働省へ臨床研究の申請を行った。

B.方法

当科では、ABMi療法施行前に6か月間以上の禁酒を確認できた6例(男性)のアルコール性肝硬変患者に対しABMi療法を施行した。肝生検にて肝硬変(F4)が確認され、かつ、総ビリルビン値3.0mg/dl未満、血小板数50,000/ μ l以上、画像検査で肝細胞がんがなく、腹水や脳症がコントロールされ心肺機能良好で全身麻酔が可能な患者、を対象とした。自己骨髄細胞は、全身麻酔下で400mlの骨髄液を採取し、洗浄後に静脈内投与を行った。平成22年度までに6例(男性)に施行した。ABMi療法施行後の24週間の経過観察中に飲

酒により脱落した1例を除外し、5例を解析対象とした。平成27年1月15日現在における、患者の生命予後を明らかにした。観察期間のエンドポイントは、生存例は平成27年1月15日、死亡例は死亡時とした。また、血清アルブミン値について、ABMi療法直前値、ABMi療法施行4週後、最新値(死亡例は死亡前値)を用いて、生命予後との関係を検討した。

C.結果

1. ABMi療法施行患者の生命予後

ABMi療法施行症例(5例)の、生命予後を表1に示す。ABMi療法施行後の平均観察期間は5.05年(range:2.42年-7.25年)であった。患者の生命予後は死亡2例、生存3例であった。2例の死因は、肝細胞がん、および肝不全・腎不全であった。肝機能検査値の最新値(死亡例は死亡前値)の検討では、生存例(3例)では血清アルブミン値の高値とchild-pughスコアの改善が認められるのに対し、死亡例(2例)では低アルブミン血症およびchild-pughスコアの増悪が認められた、

2. 血清アルブミン値と生命予後の検討

血清アルブミンのABMi療法直前値、最新値(死亡例は死亡前値)を用いて、予後との関係を検討した(図1)。生存例(3例)では、全例、血清アルブミン最新値がABMi療法直前値に比較し上昇していたが、死亡例(2例)ではいずれも血清アルブミン死亡前値はABMi直前値に比較し低下していた。ABMi療法施行4週後の早期の血清アルブミン値を加えて、予後との関係を検討した(図2)。ABMi療法施行4週後の血清アルブミン値は、生存例3例、肝細胞がん発病までは経過良好

であった死亡例 1 例(肝細胞がん症例)では、ABMi 療法直前値に比較して上昇していた。一方、肝不全・腎不全で死亡した症例では、ABMi 療法施行 4 週後の血清アルブミン値は ABMi 直前値と差が認められなかった。

D. 考察

アルコール性肝硬変患者に対する ABMi 療法では、治療後 24 週間ないしは 72 週間の肝機能改善に関わる有効性が確認されている。ウイルス持続感染の影響がないアルコール性肝硬変において、ABMi 療法は、禁酒が守られた場合には良好な肝機能の持続的改善が得られ、良い適応であると思われる。

今回、ABMi 療法を受けた患者の生命予後を検討した結果、死亡例の死因は肝細胞がん、および肝不全・腎不全であった。死亡例では、死亡前の肝機能検査値において、低アルブミン血症が顕著であり、child-pugh スコアの増悪も見られた。一方、アルコール性肝硬変に対する ABMi 療法における長期生存例では、血清アルブミン値と child-pugh スコアの改善が確認された。そして、ABMi 療法施行 4 週後の早期の血清アルブミン値を ABMi 療法直前値と比較検討すると、肝不全・腎不全による死亡例では、早期のアルブミン上昇が認められなかった。ABMi 療法施行 4 週後の早期の血清アルブミン値の反応性が、ABMi による肝再生効果を反映し、その後の血清アルブミン値の改善および生命予後を予測する上で有用なマーカーとなる可能性がある。

今後、実施を予定している C 型肝硬変に対する多施設対照比較試験において、血清アルブミン値の早期反応と予後の関係を更に検討する価値があるものと思われた。

E. 結論

ABMi 療法により、生命予後の良好な例では、血清アルブミン値の改善が認められる。また、ABMi 療法施行後 4 週目の早期の血清アルブミン値の反応が、本治療法の有効性を予測する上で有用なマーカーとなり得る可能性がある。今後の更なる検討を要する。

研究発表

1. 論文発表

1. Inoue J, Ueno Y, Kawamura K, Yamamoto T, Mano Y, Miura M, Kobayashi T, Niitsuma H, Kondo Y, Kakazu E, Ninomiya M, Kimura O, Obara N, Kawagishi N, Kinouchi Y, Shimosegawa T. Association between S21 substitution in the core protein of hepatitis B virus and fulminant hepatitis. *J Clin Virol.* 2012 Oct;55(2):147-152
2. Kondo Y, Ueno Y, Ninomiya M, Tamai K, Tanaka Y, Inoue J, Kakazu E, Kobayashi K, Kimura O, Miura M, Yamamoto T, Kobayashi T, Igarashi T, Shimosegawa T. Sequential immunological analysis of HBV/HCV co-infected patients during Peg-IFN/RBV therapy. *J Gastroenterol.* 2012 Dec;47(12):1323-1335
3. Saito T, Tomita K, Haga H, Okumoto K, Ueno Y: Bone marrow cell-based regenerative therapy for liver cirrhosis. *World J Methodol* 2013; 3: 65-69
4. Saito T, Ueno Y: Transmission of hepatitis C virus: Self-limiting hepatitis or chronic hepatitis? *World J Gastroenterol* 2013; 19: 6957-6961
5. Wada Y, Sato C, Tomita K, Ishii-Aso R,

Haga H, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H, Saito T, Ueno Y: Possible autoimmune hepatitis induced after chronic active Epstein-Barr virus infection. Clin J Gastroenterol 2014; 7: 58-61

6. Tomita K, Haga H, Mizuno K, Katsumi T, Sato C, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H, Saito T, Ueno Y: Epiregulin promotes the emergence and proliferation of adult liver progenitor cells. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2014; 307(1): G50-57

7. Tomita K, Haga H, Ishii G, Katsumi T, Sato C, Aso R, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H, Saito T, Otani K, Ueno Y: Clinical manifestations of liver injury in patients with anorexia nervosa. Hepatol Res 2014; 44(10): E26-31

2 . 学会発表

1. 芳賀弘明、斎藤貴史、奥本和夫、富田恭子、佐藤智佳子、石井里佳、西瀬雄子、渡辺久剛、上野義之：ABMi 療法を施行したアルコール性肝硬変患者の骨髄シンチグラフィと肝予備能の変化についての検討 第 54 回日本消化器病学会大会、神戸；2012 年 10 月

2. 芳賀弘明、斎藤貴史、奥本和夫、富田恭子、佐藤智佳子、石井里佳、西瀬雄子、渡辺久剛、上野義之、河田純男：自己骨髄細胞投与療法を施行したアルコール性肝硬変患者の 2 年間による長期予後。 第 48 回日本肝臓学会総会、金沢；2012 年 6 月

3. 西瀬雄子、斎藤貴史、富田恭子、佐藤智佳子、石井里佳、芳賀弘明、奥本和夫、渡辺久剛、今井康陽、堀田 博、上野義之、河田純男：C 型肝炎ウイルス 1b の NS3 領域蛋白質

2 次構造を基にしたサブグループ分類と肝細胞癌発生の関連性に関する前向き研究（第 2 報）。 第 48 回日本肝臓学会総会、金沢；2012 年 6 月

5. 西瀬雄子、渡辺久剛、富田恭子、佐藤智佳子、石井里佳、芳賀弘明、奥本和夫、斎藤貴史、上野義之：当院における 70 歳以上 C 型肝炎患者の IFN 治療の現状 第 16 回日本肝臓学会大会、神戸；2012 年 10 月

6. 富田恭子、芳賀弘明、渡辺久剛、佐藤智佳子、石井里佳、奥本和夫、西瀬雄子、斎藤貴史、上野義之：神経性食欲不振症における肝障害リスク因子の検討 第 16 回日本肝臓学会大会、神戸；2012 年 10 月

7. 佐藤智佳子、渡辺久剛、上野義之：非アルコール性脂肪性肝障害を基盤とした肝癌症例の臨床的特徴 第 16 回日本肝臓学会大会(シンポジウム 8「NASH からの発癌：基礎と臨床」)、神戸；2012 年 10 月 11 日

8. Okumoto K, Saito T, Tomita K, Sato C, Ishii R, Haga H, Nishise Y, Watanabe H, Ueno Y. The serum level of B-FGF and Scf in hepatitis C patients and its prognosis with hepatocellular carcinoma. DDW2012, San Diego, USA, May 20, 2012

9. Tomita K, Haga H, Mizuno K, Katsumi T, Sato C, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H, Saito T, Ueno Y: Epiregulin Promotes the Emergence and Proliferation of Adult Liver Progenitor Cells. AASLD, Washington; November 2013

10. Tomita K, Haga H, Mizuno K, Katsumi T, Sato C, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H, Saito T, Ueno Y: The Role of Epiregulin During Liver Regeneration: the Possible Function of Promoting the

Emergence and Proliferation of Liver Progenitor Cells. 第 20 回肝細胞研究会, 大阪; 2013 年 9 月

11. Tomita K, Haga H, Katsumi T, Sato C, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H, Saito T, Ueno Y: Clinical Manifestations of Liver Dysfunction in Patients with Anorexia Nervosa. IDD forum, Hong Kong; June 2013

12. 富田恭子, 芳賀弘明, 勝見智大, 佐藤智佳子, 石井里佳, 奥本和夫, 西瀬雄子, 渡辺久剛, 斎藤貴史, 上野義之: 肝再生におけるエピレグリンの役割と機能解析, 第 49 回肝臓学会総会, 東京; 2013 年 6 月

13. 水野 恵, 渡辺久剛, 阿蘇里香, 宇賀神智, 勝見智大, 富田恭子, 佐藤智佳子, 奥本和夫, 西瀬雄子, 斎藤貴史, 上野義之: 当院における肝硬変の成因別実態と合併症の臨床的特徴 第 50 回日本肝臓学会総会, 東京; 2014 年 5 月

14. 渡辺久剛, 斎藤貴史, 上野義之: 本県における肝炎対策の現状と課題をふまえた「や

まがた肝炎ネットワーク」の構築と肝疾患診療連携体制 . 第 50 回日本肝臓学会総会, 東京 ; 2014 年 5 月

15. 富田恭子, 芳賀弘明, 水野 恵, 勝見智大, 佐藤智佳子, 奥本和夫, 西瀬雄子, 渡辺久剛, 斎藤貴史, 上野義之: 高度肝障害時に Epipegulin は肝前駆細胞を誘導・増殖させることにより肝再生に寄与する .第 50 回日本肝臓学会総会, 東京 ; 2014 年 5 月

16. 佐藤智佳子, 渡辺久剛, 上野義之: 糖尿病患者では潜在的 NASH が混在し NASH では肝病態進展に糖尿病が促進的役割を果たす . 第 50 回日本肝臓学会総会, 東京 ; 2014 年 5 月

17. 渡辺久剛, 佐藤智佳子, 上野義之: 生活習慣からみた非 B 非 C 肝癌の臨床的特徴と囲い込みのためのリスクファクター .第 18 回日本肝臓学会大会, 神戸 ; 2014 年 10 月

知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1.特許取得 2 . 実用新案登録
なし。

表 1 アルコール性肝硬変に対する ABMi 療法施行症例の生命予後

	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5
ABMi施行時年齢	59	61	60	75	69
観察期間	2年5ヶ月	7年3ヶ月	5年3ヶ月	5年2ヶ月	5年2ヶ月
生命予後 (2015.1.15)	死亡 (HCC)	生存	生存	生存	死亡 (肝・腎不全)
最新(死亡例は死亡前)臨床データ					
Albumin (g/dl)	2.4	5.2	4.9	3.8	2.6
T.bilirubin (mg/dl)	2.5	1.1	1.3	2.2	1.9
PT (%)	62	101	107	63	71
Ascites	moderate	none	none	none	minimal
Coma	none	none	none	none	grade
Child-Pugh score () 治療前	11 (8)	5 (7)	5 (5)	7 (8)	8 (6)

図 1 血清アルブミン値の長期経過と生命予後

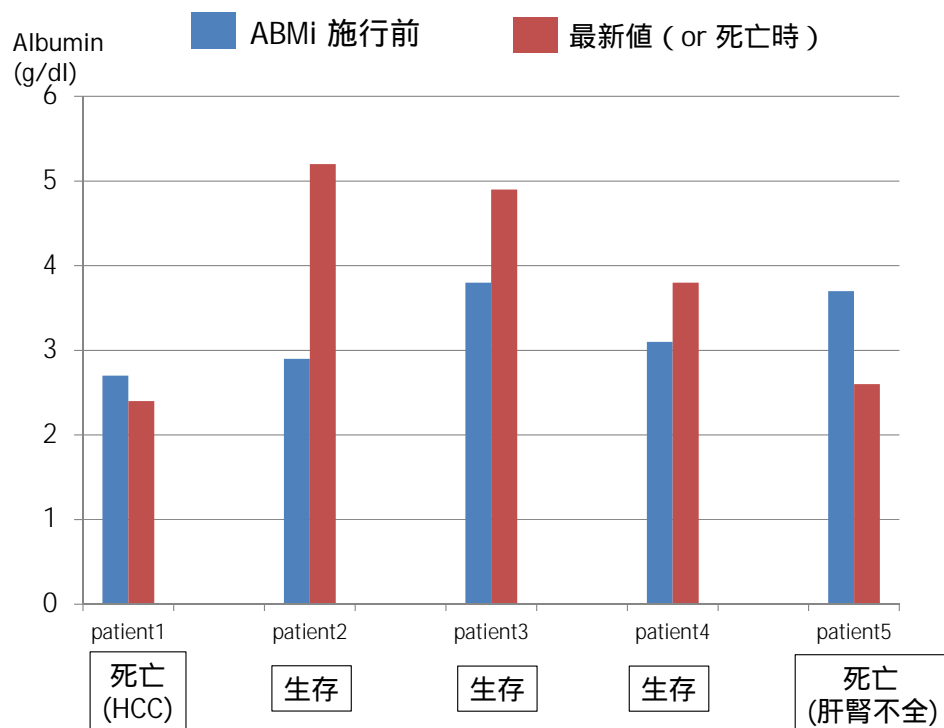


図 2 血清アルブミン値の早期反応と長期経過・生命予後

