

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

1. 小児肝移植オンラインシステムの整備

1989年に本邦で肝移植の第一例目が実施されてから20年以上が経過し、肝移植は肝不全に対する治療として確立されている。国立成育医療研究センターは、2013年からは本邦における小児肝移植医療の現状把握と肝移植を受けた小児患者の成長発達の評価のためのオンライン登録を開始し、平成28年3月の段階で358例を登録した。その内訳は男児156例、女児202例で、主たる原因疾患は胆道疾患(205例)、代謝性疾患(67例)、急性肝不全(55例)であった。本データベースでは詳細な小児の成長・発達の調査項目を整備しており、こどもの成長発達、そして復学・進学・就業状況を継続的に評価できる。今回の調査で、肝移植後の約80%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、難病を克服したあとの比較的良好なるQOLの実態を明らかにすることができた。今後とも本調査を継続し、この情報を患者家族に還元することで包括的な患者支援に繋げてゆくことが期待できる。

2. 乳児劇症肝不全の新しい重症度分類の確立

平成26年度はサイトカインX(肝細胞アポトーシス誘導因子)とそれを分解する肝酵素Yの発現に基づく“新しい重症度分類(組織診断)”を構築した。さらに成人例でも追加検証を行い、その臨床的意義を明らかとした。本症の最終診断には肝生検が必要であるが、重度の凝固障害を合併した場合は肝生検の施行が困難なことも少なくない。そこで、27年度は尿中のサイトカイン測定に基づく体外診断技術とマルチポイントで比較検討できる臨床指標を整備した。今後はこの体外診断技術の感度および特異度の検証に向けて臨床研究を進める予定である。この尿中のサイトカイン測定に基づく体外診断技術と従来の病理診断技術との統合で、さらに迅速かつ確度の高い診断が見込まれる。

本症の更なる治療成績の改善には、分子情報に基づく先駆的診断および治療法開発の確立が急務である。近年、炎症性サイトカインは肝不全の治療標的として注目されている。興味深いことに、本症では炎症性サイトカインXを失活させるプロテアーゼ(内因性の肝酵素Y)の発現が著減しており、このことが肝局所でのサイトカインストームの増悪因子になっている可能性が推察された。今後は炎症性サイトカインXを標的としたプロテアーゼ補充療法という新規治療の可能性を検討してゆく。

なお、上記の研究成果は“急性肝不全の診断方法、および予防又は治療剤”として知財確保した。2015年5月に特許出願(特願2015-101759)2016年2月PCT出願済みである。

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
福田 晃也 国立成育医療研究センター
臓器移植センター 医長
重田 孝信 国立成育医療研究センター
臓器移植センター 医員
金澤 寛之 国立成育医療研究センター
臓器移植センター 医員
中澤 温子 国立成育医療研究センター
病理診断部 部長
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 小児がん登録室長

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 非常勤研究員
小野ひろみ 国立成育医療研究センター
病理診断部・検査部非常勤技師
岡田 容子 国立成育医療研究センター
造血腫瘍発生研究室 技術職員

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。1995年から2005年の全国調査では、本邦での小児劇症肝不全の発生率は9.3例/年で、そのうち43%は原因不明例であった。全体の7割で肝移植が導入されていたが、救命率は1歳未満で54%、1歳以上で76%であり、乳児例では予後不良であった。また、当センターは肝移植医療の実態調査と肝移植後の小児の成長発達のアウトカムの観察研究を目的として、平成25年1月から小児肝移植オンラインシステムを開始した。加えて、申請者らは、本症のバイオマーカーである新規バイオマーカー(炎症性サイトカインX)の同定に成功した。

本研究班の目的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である。

B. 研究方法

1)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。

2)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像を解析する。

(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。集積データは、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、連結可能匿名化のうえ国立成育医療研究センターで管理されている。

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あたり、「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(成育医療研究センター)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)

1989年に肝移植が開始されてから20年以上が経過し、肝移植は肝不全に対する治療として確立されてきた。国立成育医療センターでは2005年10月から本症に対して生体肝移植・血液浄化療・免疫抑制治療等の集学的治療を積極的に取り組み、世界的にも優れた治療成績を挙げている。加えて、2013年1月から本邦における小児肝移植医療の現状把握と肝移植を受けた小児移植の成長発達の評価のための小児肝移植オンライン登録を開始した。

このシステムの特徴として、移植医療の実態把握のみならず、肝移植後の小児の成長発達およびに及ぼす影響を明らかにするための評価

項目を充実させていることが挙げられる。

今回の長期予後調査では約 80%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、肝移植後の QOL の実態を明らかにすることができた。今後とも、妊娠出産・就学・就労状況および免疫抑制剤内服に伴う合併症についても継続的にデータを集積してゆき、これらの情報を患者家族に還元することで、退院後の包括的な患者支援に繋げてゆく。

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)

平成 26 年度は炎症性サイトカイン X とそれを分解する肝酵素 Y の発現度に基づく“新しい重症度分類(組織診断)”の構築に成功した。間質細胞が産生する炎症性サイトカイン X が肝細胞アポトーシスであり、小児のみならず成人例でも本症の重症度を規定する因子であることを明らかとした。この分子はパラフィン固定標本を用いた後方視的解析が可能であり、過去の症例の再整理にも有用である。

平成 27 年度は肝移植後のグラフト不全症例を中心に急性肝不全のバイオマーカーである炎症性サイトカイン X の発現を解析し、この発現が移植片拒絶の病態にも関わることが示唆された。炎症性サイトカインの機能は、当初考えられていた白血球走化活性に留まらず、受容体を介した細胞アポトーシスや線維化にも関わることから、今後とも炎症性サイトカインの関与を検討することで、本症および移植医療の治療成績の向上に向けた知見が集積されることが期待できる。

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)

本症は急激な経過で多臓器不全に進展するため、迅速な対応が求められる。本症の最終診断は肝生検に基づく病理組織診断がゴールドスタンダードであるが、検査自体の侵襲性や結果判明までに時間を要する等の問題がある。そこで、平成 27 年度は体外診断の整備を開始した。本症には積極的に血液浄化療法が導入されているため、血清中のサイトカイン濃度に基づく病勢把握が困難と考えられた。そこで、胸水、尿、

透析廃液からサイトカイン X の検出を試みた。

その結果、尿検体からサイトカイン X を含めた肝不全のバイオマーカーを安定的に検出することに成功した。加えて、相対値として尿中サイトカインレベルを導出することで経時的に比較検証が可能な新たな臨床指標を独自に開発した。平成 27 年度は Epstein Barr virus (EBV) 感染に伴う劇症肝不全症例の 2 例を含めた 5 症例で尿中サイトカイン解析を行い、その臨床的意義を確認した。

D. 考察

(1) 本研究班で取り組んだ小児肝移植データベースの特徴の一つに、小児の成長・発達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。今後とも、本データベースの整備を継続し、こどもの心身の成長・発達、そして復学・進学あるいは就業状況を継続的にフォローアップし包括的な患者支援に繋げてゆく。将来的には国際連携も視野に入れて希少疾患の QOL について質の高い研究エビデンスの発信を目指してゆきたい。

(2) 急性肝不全は多彩な臨床像で発症するが、脳炎や心筋炎なども著明な肝酵素上昇をきたすため、初期診療での鑑別診断はしばしば困難である。新規バイオマーカーの検出に基づく体外診断技術が確立できれば他施設でも非侵襲的な診断・重症度判定が可能になり、重症例の早期発見と高次医療施設への搬送が図られ、しいては急性肝不全の治療成績の更なる改善が期待できる(P-8 図表将来的な波及効果)。

E. 結論

本研究班では新規バイオマーカーの発現に基づく組織診断と体外診断技術を整備した。とくに、後者では非侵襲的かつ簡便な point of care testing (POCT) を目指してゆきたい。この臨床検査法が確立できれば重症例の早期発見と小児センター等の高次医療施設への搬送が図られ、しいては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

“急性肝不全の診断方法、および予防又は治療剤” 2015年5月特許出願(特願2015-101759)
2016年2月PCT出願
出願者 成育医療研究センター。

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。

小児肝不全のデータベース

250症例
2005-2013

臨床情報
+
組織サンプル

病理診断部 臓器移植センター



研究のシーズ

乳児劇症肝不全の
新規バイオマーカー
の同定と検証

研究所

全国の主要な肝移植施設とのネットワーク



小児劇症肝不全は年間で10例発症

そのうち 成育医療研究センターは 4.5 症例 / 年の診療実績。現時点での乳児例の救命率は100%である。

臓器移植センター長	笠原群生 (分担研究者)
病理診断部長	中澤温子 (分担研究者)
病理診断部非常勤研究員	辰野美知子 (研究協力者)
病理診断部・検査部 非常勤技師	小野ひろみ (研究協力者)
研究所 技術職員	岡田容子 (研究協力者)
研究所 室長	小林健一郎 (研究代表者)



独立行政法人
国立成育医療研究センター
National Center for Child Health and Development

乳児劇症肝不全の新しい重症度分類の確立班 研究体制

将来的な波及効果

(1) 速やかな救命の連鎖の体制構築に貢献



次なるステップ：本研究班で確立した組織診断技術を発展させて尿を用いた体外診断技術の確立を目指す。これにより重症例の早期発見と高次医療施設への搬送による救命の連鎖の体制構築に貢献できる。

(2) 将来的な波及効果：病態特異的な抗炎症治療の開発

バイオマーカーXを標的とする抗サイトカイン治療

革新的な肝不全治療へ