

小児期・移行期を含む包括的対応を要する希少難治性肝胆膵疾患の調査研究

進行性家族性肝内胆汁うっ滞症に関する研究

研究分担者（順不同）

近藤 宏樹 近畿大学医学部奈良病院 小児科 准教授

虫明聡太郎 近畿大学医学部奈良病院 小児科 教授

林 久允 東京大学大学院薬学系研究科 分子薬物動態学教室 助教

研究要旨

日本国内における小児胆汁うっ滞症例のうち未診断の症例における遺伝子診断を進め、新たな進行性家族性肝内胆汁うっ滞症（Progressive familial intrahepatic cholestasis；PFIC）を同定した。胆汁うっ滞症疾患レジストリの構築にむけて日本小児肝臓研究会をベースに各方面に提案する予定で進めている。本研究の倫理審査に関しては、中央倫理委員会での一括審査を予定している。

A. 研究目的

進行性家族性肝内胆汁うっ滞症（Progressive familial intrahepatic cholestasis；PFIC）は、乳児期に発症し、常染色体劣性遺伝形式をとる家族性の肝内胆汁うっ滞症である。特徴としては、直接ビリルビン、血清胆汁酸およびAST・ALTの高値を呈するが、 γ GTP値は正常もしくは軽度高値のみである。Byler病が疾患の基礎概念になったが、その後分子生物学の発展により原因遺伝子のことなる3つの型に分類された。いずれも慢性肝内胆汁うっ滞を呈して進行性・致死性の経過をとる。1969年に米国ユダヤ人家系の家族性肝内胆汁うっ滞症が報告された。その家系の名前をとってByler病とよばれたが、これがPFICの臨床概念のもとになった。乳児期に発症し、直接ビリルビン高値、小腸吸収障害、成長障害、致死性胆汁うっ滞を呈する。

PFIC 1型（PFIC1；Byler病）は18q21に存在するATP8B1遺伝子にエンコードされたアミノリン脂質の輸送にかかわるFIC1の異常によって発症する。PFIC 2型（PFIC2）は染色体2q24に位置するABCB11遺伝子にエンコードされた胆

汁酸トランスポーターであるBSEP（bile salt export pump）の異常によって発症する。PFIC 3型（PFIC3）は染色体7q21に位置するABCB4遺伝子にエンコードされたMDR3（multidrug resistance 3）の異常によって発症する。

PFICは肝細胞から胆汁中への胆汁酸トランスポートの異常のため、乳児期から慢性の肝内胆汁うっ滞とそれに伴う成長障害、睡眠障害を伴う著明な掻痒感、脂溶性ビタミン欠乏症を呈し、肝硬変・肝不全へと進行性の経過をとる。PFIC1では、さらにATP8B1遺伝子が複数臓器に発現するために膵炎、難聴、下痢などの多彩な症状を呈する。生存率は5歳で50%、20歳で10%程度と見積もられている。現状では根本的な治療は存在しない。その一方で、肝細胞におけるBile salt export pump（BSEP）の機能低下がPFIC1の胆汁うっ滞に関与することが観察されている。

これまでの研究で、われわれは尿素サイクル異常症（UCD）治療薬として日本では2012年に薬価収載されたフェニル酪酸（4PB）が、ラットにおいて毛細胆管膜上におけるBSEP発現量を顕著に増加させ、肝細胞内から胆汁中への胆汁酸

排泄の促進作用を有することを示した (Hayashi et al. Hepatology, 2007)。また、肝内胆汁うっ滞の動物モデルにおいて、4PB を投与した場合には、BSEP の発現量低下が抑制され、胆汁流が回復すること、すなわち肝内胆汁うっ滞が軽減することも明らかとした。従って、4PB がヒトに対しても BSEP の発現量を増加させ、肝内胆汁うっ滞を改善する可能性が期待された。そこでわれわれは先行研究として、PFIC2 型患者 1 例、PFIC1 型患者 3 例に対して 4PB の投与を行った。PFIC2 型患者では、6 か月間の投与において肝機能、胆汁うっ滞の著明な改善が認められ、生化学検査値は正常化し、肝組織病理像も観察された (Hayashi et al. J Pediatr. 2014)。一方、PFIC1 型患者では、肝機能、胆汁うっ滞の改善は得られなかったが、掻痒感の著明な改善を得て、皮膚所見の改善および夜間の睡眠の中断が消失し熟睡を得ることができた (Hasegawa et al. Orphanet J Rare Dis. 2014)。

PFIC の診療に関するガイドラインは存在せず、PFIC の日本における症例数、発生頻度、自然歴などの疫学調査に必要性から、まず、日本小児栄養消化器肝臓学会会員が所属する大学病院、病院、診療所 207 施設において現在および以前に通院していた PFIC 患者（疑い含む）の実数調査を実施した。回答があったのは 100 施設 (48.3 %) で、症例を有していたのは 20 施設であった。結果の内訳は、PFIC1 24 名、PFIC2 26 名、PFIC3 4 名、分類不明・疑い症例 15 名であった。次に、成人における調査として、平成 30 年度の厚生労働科学研究 難治性疾患政策研究事業『小児期発症の希少難治性肝胆膵疾患の移行期を包含し診療の質の向上に関する研究 (仁尾班)』において帝京大学・田中篤教授に依頼し、2017 年 8 月に一次調査として日本肝臓学会役員・評議員、日本小児栄養消化器肝臓学会役員・運営委員、日本小児外科学会認定

施設・教育関連施設、日本肝胆膵外科学会高度技能専門医修練施設、以上国内 636 施設に一次調査票を送付した。さらに、二次アンケートとして症例を有すると回答した 20 施設に現在通院している、もしくは以前通院していた PFIC 患者につきカルテ調査を各施設の倫理委員会にはかり承認が得られた施設から順次カルテ調査を実施した。そして、18 歳以上症例における PFIC 症例数は PFIC1 3 人・PFIC2 0 人・不明 1 人という結果だった。

今回の課題として、PFIC の診断水準の向上、研究基盤の構築のために疾患レジストリの構築に取り組む。また、疫学調査も継続して日本における疾患エビデンスの基盤を固め小慢・指定難病登録症例の実態把握と重症度分類改定もリンクさせつつ、診療ガイドラインの作成を目指す。そして、移行期医療の阻害要因解明を行う。移行期医療や診療体制に関しては患者会とも連携して作業を進めることとする。

B. 研究方法

日本における胆汁うっ滞症において遺伝子診断がされていない例につき、診断確定を促進する目的で、日本胆道閉鎖症研究会の支援を受け、施設会員を対象に「胆道閉鎖症を否定された原因不明の黄疸・胆汁うっ滞症例」について Google form にて調査を実施施設にアンケートを送付した。さらに、二次アンケートとして「該当症例あり」との回答を頂いた施設に、名古屋市立大学が保有する「新生児・乳児胆汁うっ滞網羅的遺伝子解析システム」を紹介し遺伝子診断を各主治医に進めるように促した。

(倫理面への配慮)

本研究は、各施設における倫理委員会の審査受け、承認を得られた上で実施している。

C. 研究結果

日本胆道閉鎖症研究会の68施設より回答あり。未診断例について「新生児・乳児胆汁うっ滞網羅的遺伝子解析システム」を紹介し遺伝子解析を進めたところ、PFIC1 1例、Dubin-Johnson 症候群1例を新たに診断出来た。

これまでの疫学調査を合わせると、PFICの臨床経過は、乳児期に急速に胆汁うっ滞性肝硬変へ進行し肝移植に至る例、一旦改善するが再び増悪する例、黄疸発作を繰り返す例といった具合にその経過は多様であった。また、PFICの成人症例は日本国内では非常に少なく、多くは小児期に肝移植を受けた症例であった。

また、小児胆汁うっ滞性肝疾患の患者登録レジストリの構築の準備を開始した。国内の小児胆汁うっ滞性肝疾患の診断に際しては、通常の検査の他に、以下の必須の特殊検査が実施されている。

- ・遺伝子診断：名古屋市立大学、筑波大学
- ・病理診断：久留米大学
- ・胆汁酸分析：順伸クリニック

これらの検査を依頼する際に、患者基礎情報を登録し、追跡調査が可能な体制を構築することが不可欠と考える。手順としては日本小児肝臓研究会をベースに各方面に提案する予定で進めている。本研究の倫理審査に関しては、中央倫理委員会での一括審査を予定している。

D. 考察

全世界的な疫学としては、2009年のOrphanet Journal of Rare Diseasesでは5万から10万出生に1名の患者発生率が推測されている。また2010年のJournal of Hepatology誌に掲載された報告によれば全世界における調査で、生存率は5歳で50%、20歳で10%程度と見積もられている。一方で本邦では全国の医療施設における栄養消化器肝臓分野を専門とする医師において知られている疾患にも関わらず、これま

で本邦においては正確な患者数、病歴、予後などの疫学データも存在しなかった。

これまでの仁尾班から支援を受けた調査から、およそのPFIC小児および成人患者数を把握できたが、今回、さらに診断確定がされていない国内胆汁うっ滞症例についても遺伝子診断を進め、新たなPFICを同定できた。今後、PFIC各病型についてカルテ調査を実施し、詳細な自然経過、黄疸やかゆみなどの症状の推移を明らかとしていく予定である。

また、今回の課題からは疾患レジストリ研究の遂行や包括的レジストリ構築が求められており、将来的には海外レジストリとの連携、レジストリ未整備希少疾患の包括的レジストリ構築が期待されている。本課題で、小児胆汁うっ滞性肝疾患の患者登録レジストリの構築の準備を開始した。小児胆汁うっ滞性肝疾患の診断水準の向上、研究基盤の構築のためには、本レジストリシステムの構築は不可欠である。

新たな診療ガイドラインの作成に向けては、ガイドライン等の問題点把握し、かつ小慢・指定難病登録症例の実態把握と重症度分類改定もリンクさせるよう求められている。これまでの調査結果を解析し、ガイドラインに資するエビデンスを構築しつつ、レジストリの構築を推進する。PFIC2に対する医師主導治験の結果、フェニル酪酸ナトリウム（ブフェニール®）が承認されれば世界初の新規治療法として記載することができる。また、新たな検査法として単球由来マクロファージを用いたPFIC1検査、胆汁うっ滞パネル、IRUD遺伝子検査など疾患特異的検査をガイドラインに盛り込むべく、新たな原因遺伝子の探索「小児胆汁うっ滞性疾患の病態進展機構の理解、予後予測因子の探索に関する研究（後方視的研究）」を進行中である。

今後、以上のデータを集約して小児胆汁うっ滞の診断治療ガイドラインの作成を提案する。

E. 結論

日本国内における小児胆汁うっ滞症例のうち未診断の症例における遺伝子診断を進め、PFIC小児および成人患者数が、ほぼ把握できた状態と考える。胆汁うっ滞症疾患レジストリの構築を進行中である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1). Nakano S, Osaka S, Sabu Y, Minowa K, Hirai S, ○Kondou H, Kimura T, Azuma Y, Watanabe S, Inui A, Bessho K, Nakamura H, Kusano H, Nakazawa A, Tanikawa K, Kage M, Shimizu T, Kusuhara H, Zen Y, Suzuki M, ○Hayashi H. Effect of food on the pharmacokinetics and therapeutic efficacy of 4-phenylbutyrate in progressive familial intrahepatic cholestasis. *Scientific Reportt.* 2019 ;9:17075.
- 2). Zen Y, ○Kondou H, Nakazawa A, Tanikawa K, Hasegawa Y, Bessho K, Imagawa K, Ishige T, Inui A, Suzuki M, Kasahara M, Yamamoto K, Yoshioka T, Kage M, ○Hayashi H. Proposal of a liver histology-based scoring system for bile salt export pump deficiency. *Hepatology Research.* (in press).

2. 学会発表

- 1). ○林久允
進行性家族性肝内胆汁うっ滞症 2 型の病態解明を基盤とした創薬研究
京都小児外科セミナー 2019/04/14
- 2). ○Hisamitsu Hayashi

Development of Novel Medical Therapy for Pediatric Liver Diseases with Intrahepatic Cholestasis

APASL STC Tokyo 2019 2019/4/19

- 3). Satoshi Nakano, Shuhei Osaka, Yusuke Sabu, Kei Minowa, Saeko Hirai, Takeshi Kimura, Yoshihiro Azuma, Satoshi Watanabe, Ayano Inui, Kazuhiko Bessho, Toshiaki Shimizu, Mitsuyoshi Suzuki, ○Hisamitsu Hayashi

Effect of food on pharmacokinetics and therapeutic efficacy of 4-phenylbutyrate in progressive familial intrahepatic cholestasis

ESPGHAN 2019 2019/6/5

- 4). ○林久允

トランスポーター関連希少疾患に対する新規治療戦略の開発を指向した創薬研究
第 26 回 HAB 研究機構学術年会
2019/06/21

- 5). 里村宜紀、別所一彦、福岡智哉、木村武司、橘真紀子、三善陽子、長谷川泰浩、○林久允、戸川貴夫、大園恵一
VIPAS39 に変異を同定しえた本邦初の ARC 症候群 2 型の 1 例
第 36 回日本小児肝臓研究会 2019/7/13

- 6). 佐分雄祐、水谷歩、伊藤彰吾、伊藤孝一、楠原洋之、戸川貴夫、○林久允
家族性肝内胆汁うっ滞症 2 型の病型鑑別を目的とした ABCB11 の病因変異の解析
第 36 回日本小児肝臓研究会 2019/7/13

- 7). 水谷歩、佐分雄祐、伊藤彰吾、伊藤孝一、楠原洋之、戸川貴夫、○林久允
進行性家族性肝内胆汁うっ滞症患者が保因する変異が病因遺伝子の splicing に及ぼす影響の検討
第 36 回日本小児肝臓研究会 2019/7/13

- 8). ○林久允

難治性肝内胆汁うっ滞症の医薬品開発研究を基盤としたリバーストランスレシヨナルリサーチ

treatment of pediatric liver diseases with intrahepatic cholestasis
JDDW2019 2019/11/22

第 11 回小児肝臓・肝移植研究会
2019/09/28

- 9). 平井沙依子、中野聡、箕輪圭、鈴木光幸、
○林久允、清水俊明

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

進行性家族性肝内胆汁うっ滞症 2 型に対するフェニル酪酸ナトリウムの効果
～ 当院 2 例の治療経過 ～

第 11 回小児肝臓・肝移植研究会
2019/09/28

- 10). ○Hisamitsu Hayashi

Translational and reverse translational research on pediatric cholestatic liver diseases

THE 14th SUGIYAMA LABORATORY (RIKEN)
OPEN SYMPOSIUM 2019/10/11

- 11). ○林久允

家族性肝内胆汁うっ滞症の成因、診断、治療に関する最新知見

第 46 回日本小児栄養消化器肝臓学会
2019/11/3

- 12). 水谷歩、佐分雄佑、伊藤彰吾、伊藤孝一、楠原洋之、戸川貴夫、○林久允

家族性肝内胆汁うっ滞症患者の保因変異が病因遺伝子の splicing に及ぼす影響に関する検討

第 46 回日本小児栄養消化器肝臓学会
2019/11/3

- 13). ○林久允

肝内胆汁うっ滞症に対する創薬研究を基盤としたリバーストランスレシヨナルリサーチ

順天堂大学第 2 回若手研究者コミュニティー 2019/11/13

- 14). ○Hisamitsu Hayashi

Repurposing of 4-phenylbutyrate for