

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業
難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究
分担研究報告書

小児期の門脈血行異常症に関する調査研究

研究分担者 鹿毛政義 久留米大学先端癌治療研究センター・分子標的部門 客員教授
研究協力者 考藤達哉 国立国際医療研究センター肝炎・免疫研究センター
研究センター長
研究協力者 草野弘宣 久留米大学医学部病理学教室 講師
研究分担者 大藤さとこ 大阪市立大学大学院医学研究科 准教授

研究要旨：門脈血行異常症分科会は、主に成人を対象に研究を行ってきたが、新たに小児期の門脈血行異常症も対象に加え研究を開始した。昨年度から Fontan 関連肝疾患（FALD）を研究対象に加え検討を行った。FALD は肝うっ血を基盤に肝病変が進展し、肝硬変に至り肝細胞癌を合併する。この病態と自然史はバッドキアリ症候群 BCS と類似する点が多く、FALD の研究は BCS の病態解析にも資すると考えられる。

研究目的は、FALD 患者の診療指針・ガイドラインを作り、患者の QOL の向上を図ることである。本分科会では考藤達哉が中心となり FALD 研究を進めている。考藤は国立国際医療研究センター国際研究開発費・重点研究班（FALD-J）班長であり、FALD-J と共同で作業を進めている。本分科会における役割分担については、疫学調査は主として大藤さとこが、病理・病態解析は鹿毛政義と草野弘宣が担当している。本報告書では、FALD の病理・病態解析の結果について報告する。

1. FALD の肝生検組織の病理学的検討結果

FALD 症例 21 例の針肝生検を病理組織学的に検討した。全ての症例にうっ血性肝線維化が認められた。酸化ストレスマーカーの 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) の免疫組織化学的検討では、半数の症例に肝細胞の 8OHdG の強発現が観察された。

2. マウスうっ血肝モデルの樹立と病態研究

マウスを用いて部分下大静脈結索を行い、うっ血性肝線維化モデルを作成した。病理学的検索結果、うっ血性肝線維化が生じ、肝細胞の過形成結節や肝細胞癌の発生が観察された。その病態について、うっ血肝では毛細血管化肝類洞内皮細胞が誘導され、shingosine-1-phosphate がうっ血性肝線維化/肝細胞癌を惹起する可能性が示唆された。

今回の検討で、うっ血肝の病態や進展における酸化ストレスの関与が示唆された。今後更に症例を集積して、うっ血性肝疾患の病理学的解析を進める予定である。

A. 研究目的

研究目的は、本邦におけるうっ血性肝疾患、すなわちバッドキアリ症候群（BCS）ならびに Fontan 関連肝疾患（FALD）の実態を解明して、診断と治療のガイドラインを作成し、患者の予後と QOL の改善を図ることである。

FALD を研究対象に取り上げた理由は、FALD は肝うっ血を基盤に肝病変が進展し、肝硬変に至り肝細胞癌を合併する。FALD の病態と自然史は BCS と類似する点が多く、FALD の研究は BCS の病態解析にも資すると考えられる。つまり FALD の研究は本分科会の研究対象疾患である BCS の病態解析に資するであろうとの判断に依る。

B. 研究方法

本分科会では考藤達哉が中心となり FALD 研究を進めている。考藤は国立国際医療研究センター国際研究開発費・重点研究班（FALD-J）（平成 30 年—継続中）班長であり、FALD-J と共同で研究を進めている。本分科会における役割分担については、疫学調査は主として大藤さとこが、病理・病態解析は鹿毛政義と草野弘宣が担当している。本報告書では、FALD の病理・病態解析の結果について報告する。

今年度は、分担研究として次の 2 つの課題と取り組んだ。

2. FALD の肝生検組織の病理学的検討

FALD-J で収集された 21 例の FALD の針肝生検症例を病理組織学的に検討した。さらに、うっ血肝の線維化や肝細胞癌の病態形成における酸化ストレスに着目して、肝組織を対象に、酸化ストレスマーカーである 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) の免役組織化学的検討を行った。

2. マウスうっ血肝モデルの樹立と病態研究

マウスを用いて部分下大静脈結索（pIVCL）を行い、うっ血性肝線維化モデルを作成し、ジエチルニトロサミン併用によりうっ血性肝癌モデルを作成した。肝類洞内皮細胞（LSEC）の関与および肝線維化腫瘍増殖に関与する shingosine-1-phosphate (S1P) に着目し、肝内 S1P を質量分析で評価した。

（倫理面への配慮）

本研究の実施にあたっては、国立国際医療研究センター並びに大阪市立大学大学院医学研究科の倫理委員会の倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1. FALD の肝生検組織の病理学的検討結果

すべての症例にうっ血性肝線維化が観察され、その程度は症例により異なった。但し、うっ血性肝硬変は認めなかった。

肝組織の 8OHdG の免役組織化学の発現結果は、肝細胞の 8OHdG の発現の強度や肝小葉における発現肝細胞の分布は症例により異なった。21 症例中 11 例に、肝細胞の 8OHdG の強発現が観察された。

2. マウスうっ血肝モデルの研究結果

pIVCL 直後より門脈圧/下大静脈圧は上昇した。その後うっ血性肝線維化が生じ、さらに肝線維症を背景に肝細胞の過形成結節や肝細胞癌の発生が観察された。その病態について、うっ血肝では毛細血管化 LSEC が誘導され、S1P がうっ血性肝線維化/肝細胞癌を惹起することを明らかにした。

D. 考察

BCS では、肝病変の進展はうっ血によって惹起され、うっ血肝、肝線維症、さらにうっ血性肝硬変に至る。さらに BCS の特徴としてうっ血性肝硬変に高率に肝細胞癌を

合併することが報告されている。FALD については、BCS との病態や自然史の類似性は理解されているが、その詳細は不明である。今後本分科会で取り組まれている FALD の疫学調査により、本邦の FALD 患者の実態が明らかにされると期待される。他方、解明すべき病理学的課題も FALD には少なくない。FALD 肝病理組織学像については、すでに報告がある。今回の FALD-J で収集された肝生検組織の検討では、種々の程度に進行したうっ血性肝線維化が確認された。

FALD の臨床上重要な問題点として肝細胞癌の合併があるが、発がん機序については不明である。近年発癌機序として、長期間のうっ血により、肝細胞の壊死と再生が繰り返される過程で、何らの発がん物質が関与し、発がんが惹起されるのではないかと推察されている。ただし発がん物質は発見されていない。我々はかつて、BCS の発がん機序のひとつの要因として酸化ストレスに着目し、BCS の肝生検組織を対象に 8-OHdG の免役組織化学を行った。その結果は対照の C 型慢性肝炎に比して BCS では 8-OHdG を強い発現する症例が多かった。今回の FALD の肝組織においても約半数の症例において 8-OHdG の強発現が観察された。8-OHdG は活性酸素種に DNA が酸化損傷を受けて生成される物質の 1 つ酸化ストレスマーカーである。酸化ストレスは、生体内の酸化種と抗酸化システムのバランスが崩れ、酸化反応が優位になっている状態であり、がんの発生において酸化ストレスがその要因なりうるということが報告されている。今回検討した FALD のうっ血肝では酸化ストレスが亢進している可能性が示された。FALD の病態形成や肝発癌に酸化ストレスが関与する可能性が示された。

マウスを用いたうっ血肝の実験モデルでは興味深い結果が得られた。発癌物質のジ

エチルニトロサミンを投与した個体のみならず投与していない個体においても、肝細胞癌ないしは肝細胞癌に類似する病変が観察された。肝うっ血単独の要因により発癌が惹起されること可能性が示唆された。その病態について、今回の研究により慢性うっ血は肝類洞内皮細胞の毛細血管化を介して肝線維化および肝細胞癌を促進する可能性が示された。今後酸化ストレスの視点から FALD の病態形成や発癌機序の解明にアプローチしたい。

E. 結論

今後より多くの FALD 症例について病理学的検討を行い、うっ血肝から肝細胞合併に至る自然史と肝発癌機序の解明に取り組みたい。

<参考文献>

1) Ohfuji S, Furuichi Y, Akahoshi T, Kage M, Obara K, Hashizume M, Matsuura T, Fukushima W, Nakamura Y. Japanese periodical nationwide epidemiologic survey of aberrant portal hemodynamics. *Hepatol Res*. 2019;49(8):890-901.

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 鹿毛政義、古市好宏、大藤さところ、隈部力、草野弘宣、近藤礼一郎、矢野博久、緒方俊郎、江森啓悟、井上博人、黒松亮子、於保和彦、田中篤. 【肝の希少疾患】特発性門脈圧亢進症. *消化器・肝臓内科* 2021;9(5):555-566.

2) Kawai H, Osawa Y, Mtasuda M, Tsunoda T, Yanagida K, Hishikawa D, Okawara M, Sakamoto Y, Shimagaki T, Tsutsui Y, Yoshida Y, Yoshikawa S, Hashi K, Doi H,

Mori T, Yamazoe T, Yoshio S, Sugiyama M, Okuzaki D, Komatsu H, Inui A, Tamura-Nakano M, Oyama C, Shindou H, Kusano H, Kage M, Ikegami T, Yanaga K, Kanto T*. Sphingosine-1-phosphate promotes tumor development and liver fibrosis in mouse model of congestive hepatopathy. Hepatology.

2021Dec2. doi:10.1002/hep.32256.

3) Shukla A, Shreshtha A, Mukund A, Bihari C, Eapen CE, Han G, Deshmukh H, Cua IHY, Lesmana CRA, Al Meshtab M, Kage M, Chaiteeraki R, Treeprasertsuk S, Giri S, Punamiya S, Paradis V, Qi X, Sugawara Y, Abbas Z, Sarin SK. Budd-Chiari syndrome: consensus guidance of the Asian Pacific Association for the study of the Liver (APASL). Hepatol Int. 2021 Jun;15(3):531-567.

2. 学会発表

1) 大藤さところ、古市好広、鹿毛政義、田中篤・門脈血行異常症の臨床疫学特性の検討
・第107回日本消化器病学会学術集会・東京Web・2021年4月15日

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