

平成 21 年 6 月 29 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19592063
 研究課題名（和文） 小児肝胆道疾患における肝内胆管上皮障害と発癌に関する分子遺伝学的研究
 研究課題名（英文） Molecular genetics based study for carcinogenesis of biliary epithelium in infants with hepatobiliary diseases
 研究代表者
 出口 英一（DEGUCHI EIICHI）
 京都府立医科大学・医学研究科・准教授
 研究者番号：10197824

研究成果の概要：

小児外科領域における肝胆道疾患のうち胆道閉鎖症、肝内胆管低形成症と劇症肝炎や先天性胆道拡張症の病態を理解し解明するために胆道上皮細胞の発生から変性・再生について細胞生物学的に検討することを目的として研究を行った。その結果、先天性胆道拡張症の臨床例において膵管胆管型の合流形式を示す例では胆管膵管型に比較して胆嚢粘膜の発癌の危険性が高いことを明らかにした。さらに、臨床例において膵液の逆流による胆嚢の粘膜の細胞機能への影響を検討した結果、胆汁酸とトリプシンは異なった作用経路を介して、いずれも細胞増殖亢進に働くことが明らかとなった。一方、胆道系の胎児発生段階から胆道閉鎖症や先天性胆道拡張症を引き起こす原因となる病態についての研究では、胆道閉鎖症の病態発生において、胎児期の胆道系上皮の発生過程の異常を示す“ductal plate malformation”を有する胆道閉鎖の臨床例では、それを有さない場合に比して予後が不良となる結果であった。また、胆道閉鎖症児の下部胆管開存例の膵・胆管合流異常の検討から胆道閉鎖症の病態発生に関しては、合流異常の存在が必ずしも関与しているとはいえないとの結果が得られた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008年度	59,028	17,708	76,736
年度			
年度			
年度			
総計	2,159,028	647,708	2,806,736

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・小児外科学

キーワード：肝胆道疾患、胆管上皮、発癌、小児外科、分子遺伝学

1. 研究開始当初の背景

小児外科領域における肝胆道疾患のうち胆道閉鎖症、肝内胆管低形成症と劇症肝炎は現在なお予後不良な疾患であり、救命のためには肝臓移植が必須とされる。これらの疾患においては、黄疸すなわち肝内胆汁鬱滞が肝実質細胞の細胞障害に加えて、肝内胆管上皮細胞の変性壊死を惹起し、門脈域の胆管の消失を来たして高度胆汁排泄障害を呈する。このため肝不全が進行して、肝臓移植が行われなければ死の転帰をとる。これらの小児肝疾患において著者らは、臨床例を用いて肝内胆管の病態および胆管の変性過程に着目して病理組織学的研究を行ってきた。また、小児の先天性胆道拡張症は、手術により良好な経過をたどる例が多いが、胎児超音波検査などで発見される新生児例や肝内胆管病変を合併した例においては、術後の長期経過において肝内胆管結石の発生や胆道癌への進展など生命予後に大きな影響を与えることもまれではない。これらの、胆道系の異常を胆管上皮の発生から変性、再生という動的な側面で細胞生物学的に捉えることでこれらの疾患の病態の理解が深まり、適切な治療への足がかりが得られるものと考えて研究を行った。

2. 研究の目的

従来より著者らは、臨床材料を用いた解析により胆道系上皮細胞の変性や再生に関する病理組織学的研究を進めてきた。とりわけ、膵・胆管合流異常症例の胆嚢粘膜には小児の早期より発癌プロモーター作用が働いていることを明らかにしてきた。本研究ではまず、

膵胆管合流異常に伴う膵液の逆流によって、胆嚢の粘膜の細胞機能にどのような影響が及んでいるかをより詳細に検討することを目的とした。

さらに膵液逆流が、最終的に胆道発癌を来たすためには、肝内胆管上皮細胞に対する慢性的な障害因子の関与に加えて、癌細胞がアポトーシスを生じることなく生き残って増殖期に入ること、すなわちアポトーシス抑制タンパク (IAP) が発現することが重要であると示唆された。そこで、アポトーシス抑制タンパク (IAP) である *survivin* に注目して小児胆道癌のアポトーシス回避機構から癌の進展に至る機構を分子生物学的な手法を用いて、遺伝子的背景を解明することを第二の目的とした。

一方で、胆道系の発生から病的変化をきたすまでのさまざまな病態モデルとして、胆道閉鎖症にも注目して臨床例をもとに胆道上皮細胞の病理組織学的変化をとらえることも目的に加えた。

3. 研究の方法

先天性胆道拡張症の患児や胆道閉鎖症の患児の胆嚢・総胆管 (嚢腫) の切除標本を用いて、通常の病理組織学的解析を行った。すなわち手術で得られた胆嚢と胆管の切除標本を用いて、通常の組織学的検査に加えて免疫組織化学的検査を行った。

4. 研究成果

初年度の研究では、先天性胆道拡張症の患

児での臨床病理組織学的研究を行って、臨床例において膵管胆管型の合流形式を示す例では胆管膵管型に比較して胆嚢粘膜の発癌の危険性が高いことが明らかとなった。

さらに、臨床例において膵胆管合流異常に伴う膵液の逆流によって、胆嚢の粘膜の細胞機能にどのような影響が及んでいるかをより詳細に検討するために解析を行った。その結果、胆汁酸とトリプシンは異なった作用経路を介して、いずれも細胞増殖亢進に働くことが明らかとなった。今回の研究目的として *survivin* に注目して小児胆道癌のアポトーシス回避機構から癌の進展に至る機構を解析するための分子生物学的な手法を検討したが、成果を得るまでには至らなかった。

さらに、胆道系の発生から胆道閉鎖症や先天性胆道拡張症を引き起こす原因となる病態について研究を行った。胆道閉鎖症の病態発生において、胎児期の胆道上皮の発生過程の異常を示す“ductal plate malformation”を基盤に有する胆道閉鎖症の臨床例では、それを有さない場合に比して予後が不良となる結果であった。また、胆道閉鎖症児の下部胆管開存例の膵・胆管合流異常の検討から胆道閉鎖症の病態発生に関しては、合流異常の存在が必ずしも関与しているとはいえないとの結果が得られた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Shimadera S, Iwai N, Deguchi E, Kimura Q, Ono S, Fumino S, Higuchi K, Significance of ductal plate

malformation in the postoperative clinical course of biliary atresia. J Pediatr Surg 43, 304-307, 2008 査読有

- ② Deguchi E, Iwai N, Kimura Q, Ono S, Shimadera S, Fumino S, Significance of the anomalous arrangement of the pancreaticobiliary duct in the etiology of biliary atresia. Eur J Pediatr Surg. 17:96-99, 2007 査読有
- ③ Shimadera S, Iwai N, Deguchi E, Kimura Q, Fumino S, Yokoyama T, The *inv* mouse as an experimental model of biliary atresia. J Pediatr Surg 42, 1555-1560, 2007 査読有
- ④ Fumino S, Iwai N, Deguchi E, Kimura Q, Ono S, Shimadera S, Clinical significance of the confluence of the cystic duct in patients with anomalous arrangement of the pancreaticobiliary duct. J Pediatr Surg 42, 1319-1323, 2007 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① 小野滋, 坂井宏平, 樋口恒司, 文野誠久, 嶋寺伸一, 木村修, 出口英一, 岩井直躬 先天性胆道拡張症の晩期合併症と長期予後の検討 第 109 回日本外科学会 福岡市 2009 年 4 月
- ② 文野誠久, 小野滋, 嶋寺伸一, 樋口恒司, 木村修, 出口英一, 岩井直躬 膵胆管合流異常における乳児症例の臨床的特徴と問題点 第 45 回日本小児外科学会 つくば市 2008 年 5 月
- ③ 小野滋, 文野誠久, 嶋寺伸一, 木村修, 出口英一, 岩井直躬 小児における胆管非拡張型膵胆管合流異常症に対する分流手術の妥当性 第 30 回日本膵・胆管合流異常研究会 鹿児島市 2007 年 9 月

- ④ 出口英一, 嶋寺伸一, 佐々木康成, 樋口恒司, 文野誠久, 小野滋, 木村修, 岩井直躬 自己肝で術後 15 年経過した胆道閉鎖症 5 例の検討 第 34 回日本胆道閉鎖症研究会 名古屋市 2007 年 9 月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

出口 英一 (DEGUCHI EIICHI)
京都府立医科大学・医学研究科・准教授
研究者番号 : 10197824

(2) 研究分担者

木村 修 (KIMURA OSAMU)
京都府立医科大学・医学研究科・講師
研究者番号 : 10315963

(3) 連携研究者

なし