

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 500 号	学位申請者	梶屋 隆太
審査委員	主査	河野 嘉文	学位
	副査	井戸 章雄	副査
	副査	谷本 昭英	副査
			博士 (医学)
			上野 真一
			藏原 弘

主査および副査の5名は、平成31年2月20日、学位申請者 梶屋 隆太 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) 葛西手術時の肝生検ではどの程度の大きさの検体を採取するのか？

(回答) 右葉辺縁より1.5cm前後の検体を楔状切除で採取する。非BA症例においても同様に採取する。

質問2) 出生時に黄色だった便が白色便に変化していくのは、どのような過程か？

(回答) 出生後に次第に胆管が閉塞していくと考えられている。

質問3) 胆道閉鎖症(BA)の病変は肝外胆管が閉塞するのか？肝内胆管には病的所見はないのか？

(回答) 肝内胆管においても閉塞が見られ、末梢の胆管も閉塞、狭小化する。

質問4) 免疫染色で用いたD2-40 (podoplanin) とはどのような染色なのか？

(回答) リンパ管内皮に特異的に反応する抗体である。血管内皮の一部にも反応するとされるが、今回観察した範囲ではCD34とD2-40の両方が染まった脈管はみられなかった。

質問5) BAでリンパ管が増加していることにはどのような意味があるのか？

(回答) 今回の研究では詳細な検討は行っていない。今後の検討課題とする。

質問6) 葛西手術後も肝線維化が進行するのはどのような病態によるものか？

(回答) 胎児期に迷入し生着した母親細胞による免疫学的な攻撃が持続することにより進行すると推測している。術後に発症する逆行性胆管炎によって増悪することもある。

質問7) BAの発症に関わるのは母親由来細胞の細胞数なのか？或いは細胞の質なのか？

(回答) 母親細胞の迷入自体は普遍的な現象であり、発症に関わるのは母親細胞に対する免疫学的寛容の程度によると推測する。

質問8) BAの組織像とGVHDとの類似性は高いのか？

(回答) 門脈域への炎症細胞浸潤や末梢胆管の消失といった所見は慢性GVHDと共通している。

質問9) 母体にも胎児の細胞が迷入すると思われるが、母体内の胎児由来細胞から診断や病勢の予測は出来ないか？

(回答) 予測の手段として確立は出来ていないが、母児間の混合リンパ球培養により胎児抗原に対する母親の寛容性を評価することで発症を予測できる可能性はある。今後検討していく。

質問10) 今回の研究と臨床経過との関連性はどうか？

(回答) 今回の研究では検討を行わなかった。現在関連性を検証中である。

質問11) BAの動脈の所見はremodelingが起こっていると考えているのか？

(回答) 動脈血流の増大を反映していると考えている。

質問12) 動脈壁の肥厚は平滑筋細胞のサイズの増大なのか、細胞数の増大なのか？

(回答) 厳密な計測は行っていないが、観察時の印象としてはサイズ、数ともに増大していた。

質問13) 血管内皮も同様に肥大しているのか？

(回答) 内皮細胞のサイズの計測は行わなかった。

質問14) 動脈の変化と線維化は相関していないとのことであれば、どのような変化が血流増大に影響しているのか？

(回答) 母親細胞による血管への攻撃に対する反応として血流が増大したと推測している。

質問15) 新生児期の肝生検検体では動脈壁が肥厚している印象を受けるが、実際の計測値はどうだったか？

(回答) 非BA群との年齢調整をしていない。乳児に限定した非BAの解析は行っていない。

質問16) 葛西手術後も動脈所見は進行していると考えられるのか？

(回答) 葛西手術後に肝生検を行うことが稀であるため組織学的な比較は困難だが、超音波検査上は動脈血流が増大する傾向を示す。移植時の摘出肝で検討すると明らかに出来ると思われる。

## 最終試験の結果の要旨

質問 17) BA 患児の母親に原発性胆汁性胆管炎(PBC)や自己免疫性肝炎(AIH)が多い報告はないか？

(回答) 胆道閉鎖症研究会の全国登録の報告には記載はない。

(他の副査よりコメント) PBC や AIH の母から BA の出生が多いという報告はない。

質問 18) (組織像の写真において) 線維化に該当する部分はどこか？

(回答) Elastica Masson 染色で青色に染まっている部分である。

質問 19) 葛西手術時の BA の肝組織は、肝硬変には至っていないか？

(回答) 線維化の程度は個人差があるが肝硬変には至っていない。

質問 20) BA 症例で実際に門脈血流や動脈血流を測定した症例はあるか？

(回答) 術後経過観察中に腹部超音波検査で評価するが、術前や術中に測定した症例はない。

質問 21) 葛西手術の時点では門脈圧亢進症は呈していないか？

(回答) 手術時に脾腫を呈する症例もあり、門脈圧亢進症が生じている症例もあると考えられる。

質問 22) 門脈血流と肝動脈血流とが補い合う intrinsic regulation とは一致しない結果だったのか？

(回答) 代償性の肝動脈血流増加を支持する所見ではなく、特異的な病態と考える。

質問 23) BA 発症時期の生後 60 日前後は最も免疫学的に寛容な時期だが、この時期にこのような強い変化が生じる理由は何か？

(回答) 迷入した母親細胞に対する免疫学的寛容が生じた結果として母親細胞が排除されないため、母親細胞によって肝組織が攻撃されるのではないかと推測している。

質問 24) BA の発症因子としては単一の原因ではなく複数の因子が関連している可能性はないのか？

(回答) 出生までにある程度病状が進行した上で、出生後に外的な抗原に曝露されることで病態が完成すると考えている。

質問 25) 生検時の年齢の差が大事だと思われるが、年齢の若い非 BA と BA の所見の比較の結果はどうだったか？非 BA の症例で年齢による差はなかったのか？

(回答) 今回の検討では、非 BA の年齢層ごとの所見の比較は行わなかった。今後比較検討していく。

質問 26) 門脈径と動脈径の正の相関はどう解釈したら良いか？

(回答) 母親細胞による攻撃の結果として生じた可能性が高いと解釈している。

質問 27) 胆管の消失は見られたのか？

(回答) BA の一般的な所見として、末梢胆管が消失し門脈域辺縁に不規則な分岐を伴う偽胆管が増生する。

質問 28) リンパ球についての免疫学的な検討は行ったか？

(回答) 今回の検討では行っていない。今後行っていく予定である。

質問 29) 免疫抑制剤の投与も治療の選択肢となり得ると思うが、どのように考えているか？

(回答) 現在具体的には計画していないが、今後の展望としてアバタセプト等を用いた臨床試験について検討している。

質問 30) 免疫学的な研究を行える動物実験モデルはあるのか？

(回答) 動物実験モデルとして、ロタウイルス感染や胆管結紮、薬剤により胆管閉塞を生じさせるモデルはあるが、母児間免疫をテーマに研究する上で有用なモデルは作成されていない。

質問 31) 葛西手術の適応は III 型のみであるのか、あるいは全ての病型が適応であるのか？

(回答) 全ての病型に対して行われる。

質問 32) 葛西手術で良好な結果が得られない症例はどのくらいの割合であるのか？

(回答) 葛西手術で黄疸消失が得られない症例は乳児期に肝移植が行われるが、その割合は日本胆道閉鎖症研究会の集計結果によると 19.4%である(1年自己肝生存率 80.6%)。

質問 33) 肝移植後に病態の再燃はあり得るか？

(回答) 肝移植後に胆道閉鎖症が再燃することはない。

質問 35) qPCR で得られた母親細胞の個数の算定はどのようにしたか？

(回答) 測定した DNA 量を細胞に換算した数値を示した。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。