

論文の内容の要旨

論文題目 胆道閉鎖症におけるオキシステロールの有用性

氏名 小西 健一郎

【背景】胆道閉鎖症(Biliary Atresia: 以下 BA)は、1万人に1人の発生率であり、新生児から乳児早期に不可逆的な胆管閉塞をきたす胆汁うっ滞性疾患である。肝内および肝外の胆管に炎症性変化が起こり、線維性に変性・閉塞する。非常に強い肝線維化をきたすことが知られているが、その病因、病態は不明である。BAの確定診断は開腹手術または腹腔鏡手術下の術中胆道造影によってなされ、侵襲性の高い手術を必要とすることが重要な問題点である。そこで、BAを簡便かつ早期に、単独で診断できる非侵襲的なバイオマーカーの存在が望まれるが、現状で確立されたものは存在しない。

オキシステロールとは酸化コレステロールの総称であり、種々の構造類似化合物が存在する。生体内では異化・代謝の中間生成物、核内レセプターのリガンドとして機能している。近年ではNiemann-Pick病C型、非アルコール性脂肪肝炎、動脈硬化やアルツハイマー型認知症などの様々な疾患バイオマーカーとしての可能性が報告されているが、BAを含む小児胆汁うっ滞性疾患に対して検討された報告はほとんどない。オキシステロールのうち、7 α -hydroxycholesterolはcholic acidに、27-hydroxycholesterolはchenodeoxycholic acidに変換される。胆汁酸合成経路において、前者はclassical pathway、後者はacidic pathwayと呼ばれる。その中間代謝産物となる胆汁酸として、 Δ^5 -3 β -ol、 Δ^5 -3 β ,7 α -diol(acidic pathway)や Δ^5 -3 β ,7 α ,12 α -triol(classical pathway)が存在する。

我々は先行研究で、血清と尿中のオキシステロール7種をLC-MSにより同定する手法を確立し、小児の年齢による発達の推移を明らかにした。また、尿中オキシステロールが小児肝疾患のバイオマーカーとなり得る可能性を見出した。そこで、先行研究データ、BAの主たる障害臓器が肝臓および胆管であることから、「オキシステロールはBAの診断バイオマーカーとして有用である」という仮説を立てた。

【目的】血清と尿のオキシステロールが、BAの診断バイオマーカーとして有用か検討することを目的とした。そして、オキシステロール分析で得られた結果を胆汁酸分析で検証した。

【方法】生後6か月未満のBA群、胆汁うっ滞疾患コントロール(Non-BA cholestasis: 以下 Non-BA)群、健常コントロール(Healthy control: 以下 HC)群の血清および尿検体を、共同研究7施設から登録した。BAの定義は、手術による胆道造影で胆管が描出されない所見とした。Non-BA群は、age-matchedとなる生後6か月以下の胆汁うっ滞性疾患症例とした(疾患コントロール群)。胆汁うっ滞性疾患の定義は、黄疸、白色便や肝腫大といったBAに起こり得る臨床症状から胆汁うっ滞性疾患が疑われ、各種検査でBAの鑑別を要

し、遺伝子解析などで胆汁うっ滞性疾患の診断に至ったこと、かつ血清直接ビリルビン値 1.5mg/dL 以上とした。HC 群は、6 か月以下の健常児とした。BA 群、Non-BA 群ともに、診断時(術前)に検体を採取した。LC/MS システムを用いて 7 種のオキシステロール (4 β -hydroxycholesterol、20(S)-hydroxycholesterol、22(S)-hydroxycholesterol、22(R)-hydroxycholesterol、24(S)-hydroxycholesterol、25-hydroxycholesterol、27-hydroxycholesterol)および胆汁酸(cholic acid group、 Δ^5 -3 β -ol group、 Δ^5 -3 β ,7 α -diol group、 Δ^5 -3 β ,7 α ,12 α -triol group など)を分析した。胆汁酸は代謝経路に基づいて分類し、各種抱合体を包括的に含んで検討した。

【結果】対象は、BA 群 14 例、Non-BA 群 10 例、HC 群 10 例であった。血清および尿中の総オキシステロールは、BA 群と Non-BA が共に HC 群より有意に高かったが、BA 群と Non-BA 群で有意差はなかった(血清総オキシステロール: BA 群 vs. Non-BA 群: 中央値 0.825 μ mol/L; 範囲(最小値-最大値) 0.124-1.328 vs. 1.05; 0.324-0.326、 $P=0.77$ 、BA 群 vs. HC 群: 0.825; 0.124-1.328 vs. 0.251; 0.049-0.979、 $P<0.05$ 、Non-BA 群 vs. HC 群: 0.783; 0.324-1.519 vs. 0.251; 0.049-0.979、 $P<0.05$) (尿中総オキシステロール: BA 群 vs. Non-BA 群: 中央値 153.0 μ mol/mol creatinine; 範囲(最小値-最大値) 24.1-486.7 vs. 36.2; 5.8-411.3、 $P=0.07$ 、BA 群 vs. HC 群: 153.0; 24.1-486.7 vs. 2.7; 0.8-7.6、 $P<0.001$ 、Non-BA 群 vs. HC 群: 36.2; 5.8-411.3 vs. 2.7; 0.8-7.6、 $P<0.05$)。7 種のオキシステロールを BA 群と Non-BA 群で比較したところ、尿中 22(R)-hydroxycholesterol、尿中 25-hydroxycholesterol、尿中 27-hydroxycholesterol の 3 種が BA 群で有意に高かった(22(R)-hydroxycholesterol: BA 群 vs. Non-BA 群、中央値 36.2 μ mol/mol creatinine; 範囲(最小値-最大値) 6.1-155.0 vs. 12.9; 2.7-75.9、 $P<0.05$ 、25-hydroxycholesterol: 0.6; 0-5.5 vs. 0; 0-0.5、 $P<0.01$ 、27-hydroxycholesterol: 3.6; 0.4-11.1 vs. 0.7; 0-5.6、 $P<0.01$)。BA 診断の ROC 解析では、27-hydroxycholesterol の AUC が 0.83 と最も優れていた。27-hydroxycholesterol は、胆汁酸代謝経路の acidic pathway で合成される胆汁酸の前駆物質である。そこで、acidic pathway のみで合成される胆汁酸を測定することで、acidic pathway の状態を評価し、本研究のデータを裏付ける結果が得られるかどうか検証した。Acidic pathway のみ合成される尿中 Δ^5 -3 β -ol group と尿中 Δ^5 -3 β ,7 α -diol group に、BA 群で高い傾向を認めた(Δ^5 -3 β -ol group: BA 群 vs. Non-BA 群、中央値 6.3 μ mol/mol creatinine; 範囲(最小値-最大値) 1.0-7.8 vs. 4.5; 0.4-6.3、 $P=0.09$ 、 Δ^5 -3 β ,7 α -diol group: 0.8; 0.1-1.1 vs. 0.5; 0.1-1.3、 $P=0.07$)。

【考察】オキシステロールのうち、BA 群の尿中 22(R)-hydroxycholesterol、尿中 25-hydroxycholesterol、尿中 27-hydroxycholesterol の 3 種が、Non-BA 群と比較し、有意に高かった。ROC 解析で、尿中 27-hydroxycholesterol の AUC が 0.83 と最も優れていた。本研究では、尿中 27-hydroxycholesterol が BA 診断に有用なバイオマーカーである可能性が示唆された。

27-hydroxycholesterol は、acidic pathway の状態を評価できるバイオマーカーである。肝線維化が強い病態では acidic pathway が亢進状態にある。BA は、他の胆汁うっ滞性疾患よりも肝線維化が強いという特徴を持つ。BA 群における尿中 27-hydroxycholesterol の上昇は、BA の強い肝線維化により acidic pathway が亢進状態にあることを反映している可能性がある。

胆汁酸分析では、acidic pathway のみで合成される胆汁酸(尿中 Δ^5 -3 β -ol group と尿中 Δ^5 -3 β ,7 α -diol group)の測定値が、Non-BA 群と比較して BA 群で高かったため、acidic pathway が亢進状態にある可能性が示唆された。この結果は、BA 群の尿中 27-hydroxycholesterol が増加している結果を支持すると考えられた。

【結論】今回我々は、BA 患者におけるオキステロール分析を初めて報告した。尿中 27-hydroxycholesterol は、BA の診断マーカーとして有用な可能性がある。