

厚生科学研究研究補助金

特定疾患対策研究事業

難治性の肝疾患に関する研究

平成13年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 戸田 剛太郎

平成14 (2002) 年4月

EBMを目指して

難知性の肝疾患調査研究班も3年目を迎えた。本研究班の研究対象疾患は自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、劇症肝炎である。その研究目標は診断法、治療法の確立である。いずれも症例数は少なく、全国の大学、研究施設、医療施設の協力なしでは研究目標達成に必要な十分な症例数を確保することが困難な疾患である。特にevidenceに基づく医療の重要性が叫ばれている現在、新しい治療法の開発のためにはprospective randomized controlled studyが必須である。そのためには多くの症例が必要であり、また、希少な疾患であるために新しい治療薬を開発しても経済的に採算がとれないことが多い。このような意味では厚生労働省特定疾患対策事業の果たす役割は重要である。

自己免疫性肝炎については早期治療開始が予後改善には必要であり、そのためには早期診断が必須である。早期に診断、早期に治療を開始すれば予後良好な疾患であることが明かにされた。自己免疫性肝疾患の診断において自己抗体測定の結果は極めて大きい。しかし、感度の高い自己抗体測定法が開発されるとともに、特異的とされた自己抗体も従来考えられていたほど特異性の高いものではないことが明らかにされ、診断体系の見直しが迫られている。

原発性胆汁性肝硬変（PBC）の究極の治療法は肝移植である。しかし、ドナー肝不足は深刻である。したがって、現時点では肝移植が必要な病態への進行を抑止することが治療の目標である。本研究班の全国調査によって、retro-spective studyであるが、多変量解析によりUDCAが予後改善効果をもたらすことが示された。しかし、UDCAが無効な症例、効果不十分な症例もある。本研究班の研究において高脂血症治療薬 bezafibrate の有効性を示す報告がいくつかの施設から報告されている。PBC に対する bezafibrate の有効性確認のため、本研究班で prospective randomized controlled studyを立ち上げ、目標に向かってまた大きな一歩を踏み出したといえる。

劇症肝炎は依然として予後不良の疾患である。確立した治療法は肝移植しかないのが現状である。しかし、ドナー肝不足は深刻であり、肝移植に依存しない治療法の開発が急務である。一方において、劇症肝炎においてはevidenceのない多くの治療が行われている。また、早期治療開始が果たして予後改善効果を持っているかどうかについても全国調査では否定的である。劇症肝炎の約40%は非A非Bとされ、原因不明である。効果的な治療法を行うには原因診断から始めなくてはならない。本研究班で原因診断指針が示されたことは目標達成のための第一歩である。

平成14年4月

難治性の肝疾患調査研究班
主任研究者 戸田 剛太郎

目 次

はじめに

主任研究者 戸田 剛太郎 (東京慈恵会医科大学消化器肝臓内科)

I. 総括研究報告書

難治性の肝疾患に関する研究	1
戸田 剛太郎 (東京慈恵会医科大学消化器肝臓内科)	

II. 分担研究報告

II-1. 自己免疫性肝炎

1. 自己免疫性肝炎に関する研究	7
戸田 剛太郎 (東京慈恵会医科大学消化器肝臓内科)	
(資料)	
1. (1) 非定型自己免疫性肝炎, 原発性胆汁性肝硬変に関する調査	11
(2) 自己免疫性肝炎における免疫関連分子の遺伝子多型の検討	20
戸田 剛太郎 (東京慈恵会医科大学内科学講座消化器肝臓内科)	
2. (1)急性発症型自己免疫性肝炎の病態	22
(2)自己免疫性肝炎におけるグルココルチコイドレセプターβの発現とステロイド治療効果 辻 孝夫 (岡山大学医学部第一内科)	
3. マイクロサテライト多型を用いた自己免疫性肝炎の疾患感受性の解析	25
清澤 研道 (信州大学第二内科)	
4. 自己免疫性肝炎の病態におけるサイトケラチンの関与	27
西岡 幹夫 (香川医科大学第三内科)	
5. 自己免疫性肝炎の長期予後と宿主側因子の解析に関する研究	30
熊田 博光 (虎の門病院消化器科)	
6. マウス自己免疫性肝炎モデル作製の試み	33
各務 伸一 (愛知医科大学消化器内科)	
7. LKM-1抗体陽性例におけるCYP2D6genotypeの解析	34
賀古 眞 (社会保険都南総合病院)	
8. LKM-1抗体陽性患者のCYP2D6上のエピトープ解析: AIH 2aと2bの比較	36
西口 修平 (大阪市立大学肝胆膵病態内科学)	

9. バイオインフォマティクスを用いた自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変の肝組織中に 発現する遺伝子の解析	38
小俣 政男 (東京大学大学院医学系研究科消化器内科学)	
10. 自己免疫性肝炎における抗ミトコンドリア抗体検出の意義	40
三田村 圭二 (昭和大学第二内科)	
11. 急性自己免疫性肝炎の臨床的検討	43
森實 敏夫 (神奈川歯科大学附属病院内科)	
12. 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) と劇症肝炎に関する臨床調査個人票の有用性の検討	46
森 満 (札幌医科大学公衆衛生学)	

II-2. 原発性胆汁性肝硬変

2. 原発性胆汁性肝硬変に関する研究	51
大西 三朗 (高知医科大学第一内科)	
(資料)	
13. (1) 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) のベサフィブラート治療-長期投与例における検討-	53
(2) 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) に対するベサフィブラート (BF) の臨床研究	55
大西 三朗 (高知医科大学第一内科)	
14. (1) 原発性胆汁性肝硬変全国調査 (第22報)	57
(2) 原発性胆汁性肝硬変症におけるbezafibrate投与の有効性に関する検討	59
廣原 純子 (関西医科大学第三内科)	
15. (1) 潜在性のPBCに関する研究	60
(2) PBCにおける樹状細胞機能異常	
恩地 森一 (愛媛大学医学部第三内科)	
16. 抗IL-10抗体投与における自己免疫性GVHR肝病変の進展	62
田中 直見 (筑波大学臨床医学系消化器内科)	
17. Con Aマウス肝炎モデルを用いた免疫学的肝細胞障害発症機序とその治療法の研究	64
牧野 勲 (旭川医科大学附属病院)	
18. 肝内胆管系における自然免疫機構 -PBCの病態形成におけるP.acnesの関与について-	68
中沼 安二 (金沢大学医学部第二病理)	
19. 原発性胆汁性肝硬変の病因解析	70
石橋 大海 (国立病院長崎医療センター)	

20. PDC-E2発現とPBCに関する実験病理学的検討	73
小林 健一 (金沢大学医学部消化器内科)	
21. 炎症性サイトカインによる胆管上皮の透過性に及ぼす影響に関する研究	75
向坂 彰太郎 (福岡大学医学部第三内科)	
22. 原発性胆汁性肝硬変における胆管上皮細胞特異的に発現する遺伝子の検索	76
辻 孝夫 (岡山大学医学部第一内科)	
23. 原発性胆汁性肝硬変の肝内リンパ球解析-生体肝移植レシピエント肝組織を用いて-	78
市田 隆文 (新潟大学医学部第三内科)	

II-3. 劇症肝炎

3. 劇症肝炎に関する研究	85
藤原 研司 (埼玉医科大学第三内科)	
(資料)	
24. (1) 劇症肝炎、LOHFの全国集計 (2000年)	87
(2) B型肝炎ウイルスキャリアの急性増悪例に対するラミブジンの有効性に関する prospective study	97
(3) 広汎壊死と肝再生不全の成立機序	101
藤原 研司 (埼玉医科大学第三内科)	
25. 急性肝炎重症型の劇症化予知に関するprospective study	104
鈴木 一幸 (岩手医科大学第一内科)	
26. 当院における劇症肝炎に対する生体部分肝移植の検討	110
林 紀夫 (大阪大学大学院医学系研究科分子制御治療学)	
27. 骨髄性プロトポルフィリン症における急性肝不全と遺伝子異常	112
坪内 博仁 (宮崎医科大学内科学第二)	
28. 自己骨髄細胞を用いた難治性肝疾患に対する細胞療法の開発	113
沖田 極 (山口大学医学部第一内科)	
29. 重症型アルコール性肝炎の全国調査	115
石井 裕正 (慶應義塾大学医学部消化器内科)	
30. Lactoferrinの急性肝不全に対する治療	119
渡辺 明治 (富山医科薬科大学第三内科)	
31. 劇症化の予知と治療-HBVキャリアの急性発症を中心に-	120
与芝 真 (昭和大学藤が丘病院消化器内科)	

32. ウイルス性肝炎および肝硬変に対する肝移植の検討122
川崎 誠治 (信州大学医学部第一外科)
33. 右後区域グラフトを使用した成人間生体部分肝移植123
幕内 雅敏 (東京大学大学院医学系研究科肝胆膵外科人工臓器移植外科)
34. 自己免疫性肝疾患に対する肝移植後の再発と“de novo”自己免疫性肝炎に関する研究127
田中 紘一 (京都大学大学院医学研究科移植免疫医学講座)
35. ハイブリッド型人工肝の開発：HNF-4遺伝子導入を応用したス-P⁺肝細胞確立の試み131
森脇 久隆 (岐阜大学医学部第一内科)

II-4. 国立病院ネットワーク

(資料)

36. 自己免疫性肝炎と原発性胆汁性肝硬変症に関する国立病院ネットワーク研究137
矢野 右人 (国立長崎中央病院)
37. 国立病院・療養所における原発性胆汁性肝硬変症例のデータベース構築：
第3報 QOL調査について138
酒井 浩徳 (国立病院九州医療センター消化器科)
38. 国立病院における自己免疫性肝炎のQOL調査141
渡部 幸夫 (国立相模原病院内科)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表149

班員名簿159

平成13年度班会議総会プログラム163

I. 総括研究報告

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

総括研究報告書

難治性の肝疾患に関する研究

主任研究者 戸田剛太郎（東京慈恵会医科大学）

分担研究者名

井上恭一（関西医科大学）、藤原研司（埼玉医科大学）、小俣政男（東京大学）、田中統一（京都大学）、川崎誠治（信州大学）、矢野右人（国立長崎病院）

A. 研究目的

わが国におけるの自己免疫性肝炎(AIH)、原発性胆汁性肝硬変(PBC)、劇症肝炎(FH)の実態と年次別推移を明らかにする。従来の診断基準で診断困難な非定型的AIH[AIHとPBC、AIHと原発性硬化性胆管炎のoverlap、原因不明の慢性活動性肝炎]の診断指針を示すとともに、QOLの改善を踏まえた治療法の確立を図る。劇症肝炎(FH)の病態を明らかにし、生体肝移植を含めた予後改善に寄与する治療方策を明らかにするとともに、病態研究に有用な疾患モデルの確立とその解析により肝移植に依存しない治療法の開発を目指す。また、FHの成因診断指針の作成により、成因に応じた治療指針の確立を目指す。

B. 研究方法

従来の診断基準で診断困難な自己免疫性肝疾患症例の臨床病態を明らかにするために、新たな除外法による全国調査を行った。さらに、集積症例について、病理組織標本を収集し、肝臓病理専門医により、再判定を行った。得られた病理組織所見と、臨床所見から、AIH、PBC診断に有用な診断寄与因子を単変量、および多変量解析で求め、さらにBayesの条件付き確率定理に診断式を作成した。得られた診断式に集積症例全例を当てはめ、特に診断困難症例、非典型自己免疫性肝疾患症例の診断式上の位置づけを検討した。また、FHについても全国調査および、重症化症例の前向き全国調査を継続した。当該疾患に対する肝移植症例を集積し、その適応基準、予後等について解析した。劇症化の予知式を作成し、その妥当性を臨床症例に基づき評価した。国立病院ネットワークシステムを利用したAIH、PBC症例における生活の質改善に関する調査を行った。AIHに対するウルソデオキシコール酸(UDCA)、PBCに対するベザフィブレート(BF)の有効性に関する試験研究を班員、研究協力者の施設および関連施設で開始した。個別研究により病態発症機構を明らかにし、臨床的に有用な診断・治療方策を検討した。

C. 結果と考察

1. AIH: 988症例が登録された(AIH 330例、PBC

446例、PSC 27例、その他51例、不明41例)。このうち、病理標本が入手可能であったのは589例(回収率59.6%)であった。主治医診断と病理専門医診断が一致した症例は357例(AIH 127例(62.3%)、PBC 216例(79.7%)、PSC 7例(46.7%)、その他2例、不明5例)で、主治医診断-病理専門医診断一致症例を暫定的至適基準として解析を行った。多変量解析により、最終的に独立した説明変数として臨床因子としてALT(120IU/L以上/未満)、ALP(正常上限比1.3以上/未満)、AMA(20倍以上/未満)、病理因子としてBile duct injury(なし~軽度/中等度以上)、Bile duct loss(なし/あり)、Rosette formation(なし/あり)、Lobular hepatitis(なし~軽度/中等度以上)の7つの独立した因子群が選択された。これら因子を用いてBayesの条件付き確率定理により、AIHおよびPBCの論理的診断確率を各症例について算出した。論理的診断式により登録症例を再検討すると97%の登録症例はAIH、PBCいずれかの範疇に包含されることが明らかとなった。この事実は2,300既知遺伝子をスポットしたin-house cDNAマイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析によっても支持された。急性発症型の臨床病理学的所見は典型例と異なる特徴はなく、重症型とすべきである解析結果が示された。II型自己免疫性肝炎およびC型慢性肝炎の一部に検出されるLKM-1抗体の対応抗原はCYP2D6である。LKM-1抗体陽性例ではextensive metabolizerであるCYP2D6*1/*1が70%を占めたのに対し、陰性例ではその頻度は19%と差異が認められた。またCYP2D6を用いた疾患モデル、Con A誘発マウス肝炎モデルに関する検討が報告された。また、glucocorticoid receptor β (GR β)の発現は自己免疫性肝炎患者で有意に高率であり、寛解例ではGR β 発現は15.8%であったが、再燃例ではGR β 発現は87.6%と有意に高率であった。2. PBC: 第11回全国調査を行い、新規登録症例(平成11年1月~平成13年12月末)と経過観察症例の集計を進めている。経過観察3,034症例を診断時における臨床病期別の検討で、a-PBC例の約10%がs2-PBCに進展した。進展例は非進展例と比較して予後不良であった。無症候性PBCの予後の判別にはT-Bil、Al、T-Chol、組織学的病期、UDCAの使用の有無が有用であった。無症候性から症候性への移行率を過去20年間の観察期間中、前半の登録症例(1980~1989)と後半の登録症例(1991~2001)間で比較すると、累積移行率には差がないが、後半の登録症例では症候性に移行する期間が有意に延長していた。この要因として、本分科会の主導によるUDCA投与の普及の貢献が示唆された。肝移植は23例に施行され、生存は19

例である。家系調査では同胞内にPBC症例を有する11家系が報告されている。胆管細胞破壊の標的抗原とされているPDH E-2のT cell epitopeの解析より、発症要因には、molecular mimicryが関与する可能性が示された。PBCでは樹状細胞 (DC) の抗原提示機能の低下が認められ、その低下にはDCのNO産成の亢進が関与する事が報告された。laser capture microdissection (LCM) 法を用いたPBCの胆管上皮細胞のDNAマイクロアレイ法による検討により、PBCで特異的に発現する遺伝子が同定され、また、遊走因子でもあるstromal cell-derived factor-1 (SDF-1) の発現も示された。PBCの肉芽腫病変部位からPCRで検出される腸内細菌としてP. acnesの頻度が高く、また胆管上皮には自然免疫に関与する Toll-like receptor (TLR) の発現していることが報告された。胆管上皮細胞間のtight junctionの形成に関与する分の発現を解析より、basolateral 側にIFN- γ 、TNF- α を添加した際に、tight junctionの透過性が亢進する事を示された。疾患モデルとして、マウスB6のMHC class II mutant (B6 x bm12) を用いたGVHRのモデルCK19のpromoter を用いてヒトPDC-E 2のtransgenic mouse、初代培養胆管上皮のヒトPDH transfectant が示されて今後の発展が期待できる。

UDCA無効例に対するBF投与によるAlp低下作用と、BF長期投与例でのリンパ球浸潤と肝線維化の改善例が提示され、その作用機序として、MDR3発現の低下や、DCによるNO産成亢進がBFの投与で回復することが示された。

3. 劇症肝炎：全国610施設を対象としたアンケート調査により、2000年に発症した劇症肝炎113例(急性型46例、亜急性型67例)、LOHF 8例を集計し、その患者背景、臨床像、予後および治療法を解析した。また、1998～99年の症例も加えて、これら疾患の定義や成因分類の妥当性を評価し、予後を規定する治療の要因及び肝移植適応ガイドラインの有用性を解析した。[2000年症例の動向]生活習慣病や悪性腫瘍などの基礎疾患を有する症例が高率で、大部分は薬剤を服用していた。しかし、成因が薬剤性のものは11例(9.1%)と少なく、非A非B型が56例(46.3%)で最多であった。その多くは亜急性型ないしLOHFに分類され、14例(25%)で自己免疫性肝炎が疑われた。A型は4例に過ぎず、B型が47例(38.8%)と多かった。B型は、急性感染例がキャリア例より約1.4倍多く、前者は急性型、後者は亜急性型の頻度が高かった。肝移植非実施症例における救命率は急性型48.8%、亜急性型17.0%、LOHF 16.7%であり、何れの病型も1999年より低率であった。A型と自己免疫性肝炎疑い例は全て死亡し、B型も急性型の急性感染例以外は2例を除いて死亡例であった。B型キャリア例は13例(72.2%)でラミブジンが投与されたが、肝移植非実施例で救命できたのは1例に過ぎなかった。移植に至った症例は急性型5例(10.9%)、亜急性型20例(29.8%)、LOHF 2例(25.0%)と増加しており、これらも含めた救命率は急性型50.0%、亜急性型34.3%、LOHF

37.5%であった。肝移植非実施例を対象に検討した適応ガイドラインの正診率は、急性型は57.6%、亜急性型79.5%と前年同様に低率であった。また、肝移植実施例の増加に従って、原因疾患に対する治療や肝庇護療法のみならず、血漿交換など人工肝補助療法も肝性脳症出現前から実施される症例が増加していた。

4. 試験研究：AIHに対するUDCA、PBCに対するBFの有効性に関する試験研究を現在継続中である。

E. 結論

全国集計および網羅的遺伝子解析により、AIH、PBCは独立した疾患であることが明らかとなった。新たな治療法の試験研究が進行しており、また疾患モデルを基にした病態解析の知見を踏まえた、よりQOLの高い治療法の確立が今後期待される。UDCAについてはPBC進行遅延させることが明らかになった。非A非B型には自己免疫性肝炎が疑われる症例が含まれることが明らかになり、成因をウイルス性、自己免疫性、薬剤性、成因不明に分類することが合理的と考えられた。

II. 分担研究報告

II-1. 自己免疫性肝炎に関する研究

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

総括研究報告書

自己免疫性肝炎に関する研究

主任研究者 戸田 剛太郎 東京慈恵会医科大学内科学講座 消化器肝臓内科 主任教授

研究要旨：わが国の自己免疫性疾患の実態と診断上の問題点について、特に診断困難例あるいは非定型例の診断・治療指針を明確にすることを目的として除外法による自己免疫性肝疾患の全国アンケート調査を行った。集積症例の臨床所見、および、再集積し、一括再判定した病理組織所見を病態の説明変数として、多変量解析を行い、診断に寄与する因子を確定、さらに得られた因子を基に自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変の診断式を作成した。得られた診断式を用いて集積症例を再解析した結果、臨床的に診断困難あるいは非定型とされた症例は自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変の診断範疇に属することが明らかとなった。2,300既知遺伝子をスポットしたin-house cDNAマイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析では、正常肝組織に発現する遺伝子との比較により、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変症例は有意に発現の変動を認められ、両者には明瞭な病態の相違があり類縁の疾患ではないことが示唆された。病態解析に有益な新たな疾患モデルの確立とその解析成績が示されつつあり、これら知見に基づく診断・治療の発展が期待される。個別研究ではグルコシルチコイドレセプターβ発現と治療効果の関連、マイクロサテライト多型を用いた疾患感受性遺伝子の同定、LKM-1陽性例におけるCYP2D6ゲノタイプ、LKM-1抗体の抗原エピトープの解析、自己免疫性肝炎における抗ミトコンドリア抗体の臨床的意義、急性自己免疫性肝炎の臨床的検討、小児自己免疫性肝炎に関する報告がなされた。

自己免疫性肝炎に対するUDCAの治療効果に関するprospectivestudyが初期療法、維持療法について進行中である。

A. 研究目的

診断指針・治療指針：自己免疫性肝炎（AIH）の病態を解明し、早期診断を確実にし適切な治療法を行うことで、患者の高いQOL達成を得ることにある。しかし、AIHの診断が必ずしも容易でない症例や、非定型症例が少なからず存在し、その診断・治療の明確な対応は示されていない。そこで、非定型症例を含む診断困難なわが国の自己免疫性肝疾患の実態と明らかにするとともに、非定型症例を含む診断困難なわが国の自己免疫性肝疾患について診断指針を示すことにより、効果的な治療法選択を可能にする。

急性自己免疫性肝炎、小児自己免疫性肝炎の臨床像を明らかにし診断・治療対応について一定の指針を示す。

病態の解明：自己免疫性肝疾患の病態の解明、治療効果を規定する因子、疾患感受性遺伝子の同定、自己抗体の診断的並びに臨床的意義、自己免疫性肝炎モデル動物の作製。

新治療法の開発：自己免疫性肝炎患者のQOLを向上させることが期待できる新たな治療法としてのウルソデオキシコール酸治療の有効性に関する試験研究を開始する。

B. 研究方法

診断指針・治療指針：非定型自己免疫性肝疾患を含む全国アンケート調査を実施するために、除外法による症例登録システムによる集積を行った。調査は、平成10年から平成12年までのわが国における新規自己免

疫性肝疾患を対象に、肝臓専門医が常勤となっている全国346施設に対して行った。集積された症例について、可能な限り病理組織標本を拝借し、肝臓病理医による一括再評価を行った。集積症例の臨床諸成績、病理組織所見より、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変の診断に最も寄与する説明因子を単変量、多変量解析で求めた。説明因子を用いて自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変それぞれの診断式をBayesの条件付き確率定理により求めた。得られた診断式に集積症例全例を当てはめ、特に診断困難症例、非定型例の診断式上の位置づけを検討した。

診断が困難である急性発症型症例の臨床病理学的特徴を明らかにすることを目的としてプロトタイプとの比較を行った。

病態の解明：自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変症例肝組織を用いて2,300既知遺伝子をスポットしたin-house cDNAマイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析を行い、正常肝組織に発現する遺伝子との比較し、遺伝子発現より両疾患の関連を検討した。

疾患感受性遺伝子の同定はマイクロサテライトマーカー解析によって行った。

II型自己免疫性肝炎の臨床指標である抗LKM-1抗体陽性者について、対応抗原であるcytochrome P450 IID6 (CYP2D6) の遺伝子多型性を解析することにより、抗体発現機序に関わる遺伝的背景を検索した。

治療効果に関わる因子としてグルコシルチコイドレセプターβ (GRβ) 遺伝子に注目して、その発現レベルと治療効果との関連を検討した。

50 IID6 (CYP2D6) およびLPSの免疫モデル、Con A誘発マウス肝炎モデルの二つの疾患モデルについて、抗原認識機構、発症に関わるサイトカイン、ケモカインの解析を行った。

新治療の開発：新たなかつQOL向上が期待できる治療薬として、ウルソデオキシコール酸を用いた軽症例自己免疫性肝炎に対する初期治療効果、および副腎皮質ステロイド薬の減量に対する効果を試験研究として、IRBの承認が得られた、班員・班友の施設および関連施設で実施した。

C. 研究結果

1) 診断指針・治療指針

本年度の最も大きな成果は自己免疫性肝炎、と原発性胆汁性肝硬変の疾患独立性が、アンケート集積からの解析と、遺伝子レベルの両者で明確になったことにある。この事実は従来、非定型、病態の重複あるいは診断困難とされた症例は原則的に既知の自己免疫肝炎、原発性胆汁性肝硬変いずれかの範疇に含まれることを示唆しており、今後の診断・治療対応にとって極めて有用な知見である。

a) 自己免疫性肝疾患に関するアンケート調査の病理組織所見を含めた解析

—診断寄与因子と診断式作成およびその意義について
既存の肝疾患を除外し、本調査に最終的に登録されたのは、84施設から988症例である。主治医診断による内訳はAIH 330例、PBC 446例、PSC 27例、その他51例、不明41例であった。このうち、病理標本が入手可能であったのは589例（主治医診断AIH 204例、同PBC 271例、同PSC 15例、その他34例、不明10例；回収率59.6%）であった。それらを対象に第2次調査である病理診断を行った。

主治医診断と病理専門医診断が一致した症例は357例で、内訳はAIH 127例（62.3%）、PBC 216例（79.7%）、PSC 7例（46.7%）、その他2例、不明5例であった。この主治医診断-病理専門医診断が一致症例357例を暫定的至適基準として、基準症例についてAIH vs nonAIH, PBC vs nonPBCに分割し、それぞれの診断に寄与する因子を検討した。単変量解析の結果、表に示すごとくAIH側、PBC側ともに、臨床データは、ALT, ALP, ALP/ALT, ANA, AMA, IgG, IgM が、病理因子としては Portal fibrosis, Granuloma, Bile duct injury, Granulochoolangitis, Bile duct loss, Interface hepatitis, Atypical ductular reaction, Rosette formation, Lobular hepatitis, Zonal necrosis, Bridging necrosis, Submassive necrosis, Acidophilic bodies, Pigmented macrophage, (PBC側のみBile Prugsも) が有意差のある因子として抽出された。さらに、これらを臨床因子、病理因子別につきそれぞれ多変量解析を施行した結果、臨床因子群としては、ALT, ALP(またはALP/ALT), AMAが、病理因子では、Bile duct injury, Bile duct loss, Rosette formation, Lobular hepatitis, Zonal necrosis, Acidophilic bodiesが抽出された。これら

を統合し、臨床および病理因子を含めた解析により、最終的に独立した説明変数としてはALT (120IU/L以上/未満)、ALP (正常上限比1.3以上/未満)、AMA (20倍以上/未満)、Bile duct injury (なし~軽度/中等度以上)、Bile duct loss (なし/あり)、Rosette formation (なし/あり)、Lobular hepatitis (なし~軽度/中等度以上) の7つの独立した因子群が選択された。これら因子を用いてBayesの条件付き確率定理により、AIHおよびPBCの論理的診断確率を各症例について算出した。7つの説明変数項目の数値がすべて有効症例は269例であり、これらの暫定的至適基準症例について検討した。

この式による各疾患の確率が85%以上である診断精度は、①AIH側検討：感度(sensitivity) 86/92 (93.5%)、特異度(specificity) 177/177 (100%)、陽性的中率(PPV) 86/86 (100%)、正診率(accuracy) 263/269 (97.8%)、②PBC側検討：感度156/175 (89.1%)、特異度91/94 (96.8%)、陽性的中率156/159 (98.1%)、正診率247/269 (91.8%) であった。暫定的至適基準症例では診断式上AIH側50%以上かつPBC側50%以上の診断確率の症例は存在しなかったが、AIH側50%未満かつPBC側50%未満の診断確率を有した症例が1例存在した。本症例は50歳の女性でALT38IU/L、APL比1.6、IgG2457mg/dl、ANA、AMAともに陰性、組織上は肝硬変であり、他の変化には乏しい診断困難例であった。この式により各施設の病理診断を用いて検討したところ、各疾患の確率が85%以上である診断精度は、①AIH側検討：感度186/214 (86.9%)、特異度342/388 (88.1%)、陽性的中率186/232 (80.2%)、正診率528/602 (87.7%)、②PBC側検討：感度247/306 (80.7%)、特異度251/296 (84.8%)、陽性的中率247/292 (84.6%)、正診率498/602 (82.7%) であった。施設病理データを用いた論理診断によりAIH側50%以上かつPBC側50%以上の診断確率の症例は6例存在した。そのうち、5例はAIHまたはPBC診断確率が85%を越えており、1例のみがAIH確率59.8%、PBC確率60.3%であった。

b) 自己免疫性肝炎の急性病態の解析

自己免疫性肝炎111例を対象とし、クラスター分析により、血清総ビリルビン値3.0mg/dl以上かつ血清ALT正常上限10倍以上の症例を急性型、それ以外を慢性型自己免疫性肝炎と定義し、両者が同じ疾患であるという仮説を検定した。急性型は27例、慢性型は84例あり、両群間の背景因子、検査成績、肝組織所見、AIHスコア、治療効果および予後の相違を比較した。年齢(52.3±14.2歳と52.8±14.0歳)、性別、自己免疫性疾患の合併率、自己抗体の陽性率、HLA DR抗原の頻度、国際診断基準に基づくスコア、免疫抑制療法に対する応答、予後に差はなかった。臨床検査ではプロトロンビン時間、アルブミン、IgG正常上限値との比が急性型で有意に低値であり、ALPは有意に高値であった。病理組織では壊死炎症反応、肝細胞ロゼット形成、肝細胞虚脱、肝細胞多核化、胆汁うっ滞が急性型で有意に著明であった。急性型は肝細胞障害がよ

り高度であるが、背景因子には差が無く、両者は同一の疾患と考えられた。なお、劇症肝炎として発症し、生体部分肝移植が施行された症例が報告された。

2) 病態の解明

a) バイオインフォマティクスを用いた自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変の肝組織中に発現する遺伝子の解析

2,300遺伝子発現比を用いた平均リンケージ法による階層クラスターではAIHとPBCは明瞭に群別することが可能であった。AIHでは正常肝組織に比して発現の亢進および低下が認められたのはそれぞれ16遺伝子、3遺伝子であった。発現亢進が認められた遺伝子の内訳は転写因子(NF1B, BTEB1)、RNA修飾因子(PAPOLA, SFPQ)、核酸代謝(ADA)、アポトーシス阻害(IER3)、MAPK経路関連因子(MAPK1, MAP2K4, RAC3)、細胞内輸送(GOLGB1)、細胞間相互作用(ZYX)、胆汁分泌(CCK)、その他(GPM6B, MEF2, TEB4, OSTF1)であった。発現低下が認められた遺伝子は炎症関連因子(C1S, ORM1)、細胞障害応答(FGA)であった。原発性胆汁性肝硬変において正常肝組織に比して発現の亢進および低下が認められたのはそれぞれ18遺伝子、3遺伝子であった。発現亢進が認められた遺伝子の内訳は免疫応答(HLA-DRB5, IFTTM2, IFTTM3, AHSG)、重金属結合蛋白(MT1G, MT1L)、細胞骨格(KRT8, KRT18, ACTA2)、アポトーシス阻害(IER3)、細胞内輸送(AP3B2, SLC25A3)、細胞間相互作用(NK4)、アミノ酸代謝(AGXT)、脂質代謝(SAA1)、細胞増殖(IGFBP5)、その他(UGB, HRG)であった。発現低下が認められた遺伝子は脂質代謝(FDPS)、胆汁産生(AKR1C1)、転写因子(TAF15)であった。AIHとPBCの比較においてLOOCVによる検討で最も2群の判別に有意に寄与する遺伝子はAIHで発現亢進が19遺伝子、発現低下が5遺伝子であった。PBCに比してAIHで亢進している遺伝子の内訳はRNA修飾(SFRS5)、細胞内輸送(XK, ABCB1, TM9SF2, SLC11A2)、核酸代謝(ADA, PRPS2)、蛋白代謝(CCS, FTHFD, PSMC2)、脂質代謝(PXMP3)、細胞外基質(DPT)、胆汁分泌(CCK)、NOS阻害(PIN)、その他(SNTB1, ST13, GPM6B, THPO, DMRT2)であった。AIHで低下している遺伝子はRNA修飾(HNRPA2B1)、蛋白代謝(RPS29, BENE)、転写因子(TAF10)、細胞内飲食(ARF6)であった。選択された遺伝子を用いた階層クラスターでは2,300遺伝子を用いた場合に比し明らかに遠い距離にAIH群とPBC群をクラスタリングされた。

b) 自己抗体に関する研究

II型自己免疫性肝炎およびC型慢性肝炎の一部に検出されるLKM-1抗体の対応抗原はCytochrome P450IID6 (CYP2D6)である。CYP2D6は少なくとも21種のgene polymorphismが存在する。そこで、C型肝炎患者の一部で認められる抗LKM-1抗体出現機序を明らかにするため、LKM-1抗体陽性者と陰性者について対応抗原であるCYP2D6のgenotypeを解析した。LKM-1抗体陽性例ではextensive metabolizer

であるCYP2D6*1/*1が70%を占めたのに対し、LKM-1抗体陰性例では19%にすぎず、CYP2D6*1/*1の頻度について有意差が認められ、本抗体の産生にはCYP2D6 gene polymorphismが関与することが示唆された。

c) 疾患感受性遺伝子

わが国の自己免疫性肝炎の疾患感受性因子としてHLA-DR4が明らかにされている。マイクロサテライトマーカーの解析ではHLA-DR、DQとHLA-Bの近傍にのみ自己免疫性肝炎とコントロールの間に有意差をみとめた。この領域ではHLA-DR遺伝子そのものが疾患感受性を規定していると考えられた。

d) 疾患モデルの研究

II型自己免疫性肝炎の対応抗原であるcytochrome P450 IID6 (CYP2D6)をLPSとともに異なる2つのstrainのマウスに免疫することにより肝障害が誘導された。肝障害の程度や抗体産生において両strain間で相違が認められたことから、抗原認識の機序が異なることにより誘導される肝障害にも差異が生じることが示唆された。

Con A誘発マウス肝炎モデルはCon Aにより肝内にCD4⁺Tリンパ球が浸潤し、その後肝小葉内に広範な肝細胞壊死が生じること、催炎性サイトカインであるTNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β が肝細胞障害に関わっていることから、本モデルは自己免疫性肝炎や劇症肝炎などの難治性肝疾患の有用なモデルとなりうる。本モデルで、TNF- α により誘導されるマウスCXCケモカインであるMacrophage inflammatory protein-2 (MIP-2)が、多核白血球の肝局所への遊走と活性化を行い、肝障害発症に深く関わり、抗凝固剤であるAntithrombin III (AT-III)が肝障害発症を阻止し、その作用機序としてTNF- α からのMIP-2産生を抑制と、プロスタサイクリン産生を介することを明らかにした。

e) 治療と予後を規定する因子

ステロイドを中心とする免疫抑制療法が奏功しているAIH症例では組織学的に改善がみられ、またたとえ肝硬変移行症例でも進行は遅延させると考えられた。また、GR β の発現は自己免疫性肝炎患者で有意に高率であり、さらにステロイド治療寛解例と再燃例と比較すると、寛解例ではGR β 発現は15.8%であったが、再燃例ではGR β 発現は87.6%と有意に高率であった。末梢血リンパ球におけるGR β の発現はPSL治療効果の予測に寄与する可能性が示唆された。

f) 肝移植後の自己免疫性肝疾患症例

原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、自己免疫性肝炎を中心とした自己免疫性肝疾患の移植後再発について、検討を行った。観察期間は最長8年と短い。現時点で移植後の原疾患再発が臨床経過に影響を与えたとする証拠は得られなかった。一方、肝移植後のde novo自己免疫性肝炎については、諸外国の報告と一致する臨床像が一部に認められ、今後の体系的な前向き研究が必要であることが示唆された。

D. 考察

AIH、PBC、PSC以外の自己免疫性肝疾患は、その存在も明確でなく、従って診断も曖昧であることが多い。特に診断の重要なポイントは病理診断にあるが、これも施設による偏り、あるいは臨床情報などによるバイアスがかかり易く標準化が難しい。そこで今回は、診断施設とは全く異なった視点より、肝臓病理の専門医による病理組織のみによる診断を試みた。当然のことながらその際、患者性別、年齢、提供施設およびすべての臨床データは病理医には告知しない。これにより診断してのバイアスはほとんどなく、また、同一病理医による同時期の集中的診断であるため、病理医の疲労の影響を除けば診断のばらつきは極めて少なくなっているものと考えられる。

この種の検討における問題は、各症例の絶対的診断が不明である点にある。その問題を解決するため今回は、臨床病態も包括させ総合的に行なわれた各施設の治療医診断と、先に示した方法により検討した病理専門医の診断が一致した症例を暫定的至適基準として用いることにより、妥当性のある診断症例であると考えられる。なお、解析に用いた各施設診断医による病理診断と病理専門医の病理診断の観察された一致率は0.675から0.784であったが、その κ 値を計算するとBile duct injuryは0.183と低く、最も高いLobular hepatitisでも0.351程度であった。この病理診断の不一致性が主治医の臨床診断に大きな影響を与えているものと考えられた。

暫定的至適基準としては、明解な診断基準が存在している、AIH、PBC、PSCを用いたが、PSCは2例しか含まれなかったため、7つの独立した説明因子を用いたロジスティック回帰モデルにより自己免疫性肝疾患をAIHと非AIHで検討するAIH側検討と、PBCと非PBCから検討するPBC側検討により論理診断を行った。得られた式による診断精度は感度、特異度、正診率とも高く、その有用性は高いものと思われた。

論理診断の結果、暫定的至適基準症例は、ほとんどの症例がAIHかPBCであるためAIH側とPBC側に2分化されたが、それ以外の自己免疫性肝疾患を多く含むexclusion criteriaにより抽出された登録された症例もほとんどがAIHあるいはPBCの診断領域に位置する2極分化されることが判明した。このことは自己免疫性肝疾患全体はAIHとPBCに両極化している可能性を示し、それから外れる症例は極僅かであることを示唆している。この事実はIn-houseのcDNAマイクロアレイを用いてAIHとPBCの遺伝子発現解析を行った。網羅的な遺伝子発現解析からも支持された。

なお、個別研究により急性型AIHが特別な治療を要する慢性型とは異なる疾患単位である可能性も否定された。コルチコステロイド投与を主とする免疫抑制療法の効果も同一であった。両者は同一の範疇の疾患であり、肝細胞障害の高度の例が急性型として捉えられていることが示唆された。また、自己免疫性肝炎患者で、副腎皮質ステロイド治療中に再燃した症例で末梢

血単核球でのGR β の発現が高率に認められた。GR β の認められない症例ではPSL治療有効症例が多かった。GR β の測定が治療効果の予測に寄与する可能性も示唆された

疾患モデルでの検討から、抗凝固剤であるAT-IIIはTNF- α によるMIP-2産生抑制とプロスタサイクリン産生促進作用を有し、Con A肝細胞障害発症を阻止することが示唆された。この事実は、AT-IIIが免疫学的肝細胞障害機序が関与する自己免疫性肝炎を含む難治性肝疾患の治療において有用な薬剤となりうることを示唆している。

E. 健康危険情報

各班員の報告書参照

F. 研究発表

各班員の報告書参照

G. 知的所有権の取得状況

各班員の報告書参照

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

(1) 非定型自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変に関する調査

主任研究者 戸田 剛太郎 東京慈恵会医科大学内科学講座 消化器肝臓内科 主任教授

研究要旨：診断・治療が臨床的に困難ないわゆる診断基準に合致しない非定型自己免疫性肝炎症例の実態を明らかにし、その診断・治療方策を明らかにすることを目的して、全国集計を行った。集計に当たっては、非定型自己免疫性肝炎疾患の診断基準が存在しないことより、除外方式による、自己免疫性肝疾患の登録を行い、その結果、全国84施設より988症例が集積された。さらに、このうち589例において組織標本が回収され、組織所見を肝病理医3人の協力を得て判定した。集積症例のうち、主治医と病理医の診断が一致した症例357例について臨床所見と組織所見を診断指標として多変量解析をおこない、自己免疫性肝炎（AIH）、原発性胆汁性肝硬変（PBC）およびそれ以外の症例の診断に寄与する因子を求め、さらに、この因子を用いた自己免疫性肝疾患の診断式を作成した。この式による集積全症例の解析により、自己免疫性肝疾患は自己免疫性肝炎および、原発性胆汁性肝硬変に大きく二分され、従来確定診断には至らない症例、複数の病態が疑われるoverlap症候群など、いわゆる非定型AIH、PBCの多くは自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変内でのvarianceとして捉えられることが示された。

共同研究者

銭谷 幹男	東京慈恵会医科大学 内科学講座 消化器肝臓内科	助教授
渡辺 文時	東京慈恵会医科大学 内科学講座 消化器肝臓内科	講師
中沼 安二	金沢大学医学部 第二病理学	教授
鹿毛 政義	久留米医科大学 病理学教室	教授
前山 史朗	聖マリアンナ医科大学 病理学教室	助教授
森実 敏夫	神奈川歯科大学 内科学教室	教授
柴田 実	昭和大学医学部 第二内科学	講師

いて、既存の診断基準によりAIH、PBCおよび原発性硬化性胆管炎（PSC）と診断した。さらに、それ以外の症例をAICおよびoverlap症候群、これらのいずれにも該当しないothersと各施設の主治医が診断した。

ついで、登録症例を対象に、第2次調査としての病理標本の提出をお願いし、これらの症例について、病理医による一括病理診断を行った。すなわち回収された組織標本は3人の病理専門医、中沼安二教授（金沢大学医学部第二病理）、鹿毛政義教授（久留米大学病理部）、前山史朗助教授（聖マリアンナ大学病理）により、主治医診断を秘して表2に示す項目に従い平成13年11月28日から12月1日の4日間、それぞれ独立して評価し、かつ組織学的診断を附した。なお、病理組織判定に際しては、対象症例の臨床成績は全て伏せ、組織所見のみでAIHはAcute, CAH, Cirrhosis, Acute on chronic, with duct injuryに、PBCはstage1~4とEarly, Cholestatic, HepatiticにそれぞれはOthersとしてoverlap, PSC, others等と診断した。

病理専門医の診断が終了した後、この病理専門医診断と、各主治医診断が一致した症例を暫定的診断一致例として、多変量解析によるロジスティック回帰モデルを利用して自己免疫性肝疾患の論理診断式の作製を試みた。はじめに、全症例をAIHと非AIH、および、PBCと非PBCとして、それぞれ診断に寄与する因子を単変量解析で求めた。ついで、単変量解析で得られた診断寄与因子を利用して、同様にAIHと非AIH、および、PBCと非PBCの診断寄与因子を多変量解析により求めた。多変量解析で得られたAIH、PBC診断に寄与する因子を用いて、Bayseの定理に従い自己免疫性肝

A. 研究目的

臨床診断・治療決定に当たって困難な、いわゆる非典型的な自己免疫性肝炎（AIH）あるいは原発性胆汁性肝硬変（PBC）症例の診断・治療方策について一定の基準を示すことが本研究の目的である。

B. 研究方法

自己免疫性肝疾患全国調査用紙を本研究班班員ならびに肝臓学会評議員の所属する全国354の医療機関を対象に送付、回収した。症例の登録は図1に示すアルゴリズムに従う、いわゆる除外診断法にて行った。すなわち、既知の原因を可及的に除外しかつ、組織学的検討が行われ、症例が当該施設で、自己免疫性肝疾患と考えられる症例を登録症例とした。登録症例については、表1に示す臨床所見、検査所見、組織所見、治療効果について記載を依頼、かつそれぞれの症例につ

疾患の論理診断式を作成した。さらに、この式を用いて主治医診断、肝病理専門医診断一致症例、および登録全症例について、AIH、PBCおよび非AIH、非PBCである論理的診断確率を算出した。なお、用いた臨床検査成績のcut-off値は、集積全症例における分布、中央値を検討しを算出した(表3)。また、解析に使用した臨床因子のうちALPは症例の当該施設基準値との比を用いた。

本方式は、AIH、PBCの診断がいずれも診断基準に基づくものであり、さらに、非定型症例には有効な診断指針が存在しないことにより、臨床的および組織学的に非定型症例に比し診断が明確なAIH、PBCを基に解析を加えるものである。すなわち、明確な診断指針が存在しない非定型症例が論理診断上、いかなる診断上の位置を占めるかを判定できることが期待され、解析に採用した。

さらに、主治医診断-肝病理専門医診断一致症例については、得られた論理診断式による論理診断確率と臨床診断と比較し、感度(sensitivity)、特異度(specificity)、陽性的中率(PPV)、正診率(accuracy)を求め、不一致症例について検討を加えた。同様に登録全症例についても、臨床診断と論理的診断確率を検討し、不一致症例についてその要因を解析した。

C. 研究結果

既存の肝疾患を除外し、本調査に最終的に登録されたのは、84施設から988症例である。主治医診断による内訳はAIH 330例、PBC 449例、PSC 27例、AIC 36例、overlap症候群 54例、その他50例、不明42例であった。このうち、病理標本が入手可能であったのは589例(主治医診断AIH 204例、同PBC 271例、同PSC 15例、AIC 20例、overlap症候群 35例、その他34例、不明10例;回収率59.6%)であった。それらを対象に第2次調査である病理診断を行ったところ、主治医診断と病理専門医診断が一致した症例は357例で、その内訳はAIH 127例(一致率;62.3%)、PBC 216例(79.7%)、PSC 7例(46.7%)、その他2例、不明5例であった。

この主治医診断と病理専門医診断が一致した症例を暫定的至適基準として、この基準症例についてAIHと非AIH、PBCと非PBCに群分けし、それぞれの診断に寄与する因子を検討した。単変量解析の結果、表に示すごとくAIH側、PBC側ともに、臨床データは、ALT、ALP、ALP/ALT、ANA、AMA、IgG、IgMが(表4)、病理因子としてはPortal fibrosis、Granuloma、Bile duct injury、Granulo cholangitis、Bile duct loss、Interface hepatitis、Atypical ductular reaction、Rosette formation、Lobular hepatitis、Zonal necrosis、Bridging necrosis、Submassive necrosis、Acidophilic bodies、

Pigmented macrophage、(PBC側のみBile Prugsも)が有意差のある因子として抽出された(表5)。さらに、これらを臨床因子、病理因子別につきそれぞれ多変量解析を施行した結果、AIHと非AIH、PBCと非PBCいずれにおいても臨床因子群としては、ALT、ALP(またはALP/ALT)、AMAが、病理因子では、Bile duct injury、Bile duct loss、Rosette formation、Lobular hepatitis、Zonal necrosis、Acidophilic bodiesが抽出された。これらを統合し、臨床および病理因子を含めた解析により、最終的に独立した説明変数としてはALT(120IU/L以上/未満)、ALP(基準値上限比1.3以上/未満)、AMA(20倍以上/未満)、Bile duct injury(なし~軽度/中等度以上)、Bile duct loss(なし/あり)、Rosette formation(なし/あり)、Lobular hepatitis(なし~軽度/中等度以上)の7つの独立した因子群が選択された(表6)。なお、()内はcut-off値である。また、この際多変量解析により得られた説明変数の係数は表7の如くである。これを用い、表8に示したロジスティック回帰モデルによりAIHおよびPBCの論理的確率を各症例について算出した。7つの説明変数項目の数値がすべて有効症例は269例であり、これらの暫定的至適基準症例について検討した。

この式による各疾患の確率が85%以上である診断精度は、①AIH側検討:感度86/92(93.5%)、特異度177/177(100%)、陽性的中率86/86(100%)、正診率263/269(97.8%)、②PBC側検討:感度156/175(89.1%)、特異度91/94(96.8%)、陽性的中率156/159(98.1%)、正診率247/269(91.8%)であった(表9)。各症例についてAIH確率とPBC確率を計算し、85%以上の診断結果と70%以上の診断結果を総合的に判定した結果が表10である。これで明らかのように、診断閾値85%では約90%、診断閾値70%では97%とほとんどの症例がAIHあるいはPBCと診断されることがわかる。また、暫定的至適基準症例では診断式上AIH側50%以上かつPBC側50%以上の診断確率の症例は存在しなかった。一方、AIH側50%未満かつPBC側50%未満の症例が1例存在したが、この症例は50歳の女性でALT 38IU/L、APL比1.6、IgG2457mg/dl、ANA、AMAともに陰性、組織上は肝硬変であり、他の変化には乏しい診断困難例であった。

以上より、本診断式の妥当性が確認されたため、各施設の病理診断を用いて今回登録された988例を対象に再検討した。7つの説明変数がすべて有効で検討可能であったのは602例であった。それらを用いた結果、この式による各疾患の確率が85%以上である診断精度は、①AIH側検討:感度186/214(86.9%)、特異度342/388(88.1%)、陽性的中率186/232(80.2%)、正診率528/602(87.7%)、②PBC側検討:感度247/306(80.7%)、特異度251/296(84.8%)、陽性的中率

247/292 (84.6%)、正診率498/602 (82.7%)であった(表11)。また、AIC, overlap, others症例について本式を適用したのが表12の如くである。臨床上overlap症候群と診断された症例の多くは診断式ではAIHまたはPBCと診断された。2例のみがP(AIH)=0.598, P(PBC)=0.601およびP(AIH)=0.302P(PBC)=0.378とoverlap症候群が示唆された。

施設病理データを用いた論理診断によりAIH側50%以上かつPBC側50%以上の診断確率の症例は6例存在した。そのうち、5例はAIHまたはPBC診断確率が85%を越えており、1例のみがAIH確率59.8%、PBC確率60.3%となっていた。この症例は68歳女性で、臨床検査上はALT259IU/L、ALP比1.9(409IU/L、基準値上限220IU/L)、IgG2320mg/dl、IgM680mg/dl、ANA320倍(nucleolar)、ASMA80倍、AMA80倍、M2抗体陽性で、病理学的にはCNSDC、胆管消失を認めるものの、高度のinterface hepatitis、強い実質炎を呈し、門脈域の形質細胞浸潤もみられている。さらに治療上はコルチコステロイド剤30mg/日が著効し完全寛解導入に成功しており、担当医の診断はoverlap症候群であった。

また、AIH側50%未満かつPBC側50%未満の診断確率を有した症例は7例であった。いずれも、診断時の検査データおよび病理所見に乏しい症例であったが、主治医診断は計算上求められた論理的確率の高い診断と一致していた。なお、29歳女性でALT52IU/L、ALP比1.5、IgG2517mg/dl、IgM603mg/dl、ANA陰性、AMA160倍、M2抗体陽性、病理的には中等度のinterface hepatitisならびに実質炎、肝細胞ロゼット、形質細胞浸潤は認めるものの、胆管障害像、胆管消失像は認められない診断困難例で、主治医はAIHからPBCへの時間的overlap症候群を示唆している症例であった。

D. 考察

AIH, PBC, PSC以外の自己免疫性肝疾患は、その存在も明確でなく、従って診断も曖昧であることが多い。特に診断の重要なポイントは病理診断にあるが、これも施設による偏り、あるいは臨床情報などによるバイアスがかかり易く標準化が難しい。そこで今回は、肝臓病理の専門医による病理組織のみによる診断を試みた。当然のことながらその際、患者性別、年齢、提供施設およびすべての臨床データは病理医には告知しない。これにより診断時のバイアスはほとんどなく、また、同一病理医による同時期の集中的診断であるため、病理医の疲労の影響を除けば診断のばらつきは極めて少なくなっているものと考えられる。

この種の検討における問題は、各症例の絶対的診断が不明である点にある。その問題を解決するため今回は、臨床病態も包括させ総合的に行なわれた各施設の

主治医診断と、先に示した方法により検討した病理専門医の診断が一致した症例を暫定的至適基準として用いることにより、妥当性のある診断症例であると考えられる。なお、解析に用いた各施設診断医による病理診断と病理専門医の病理診断の一致性を表13に示した。観察された一致率は0.675から0.784であったが、そのkappa値を計算するとBile duct injuryは0.183と低く、最も高いLobular hepatitisでも0.351程度であった。この病理診断の不一致性が主治医の臨床診断に大きな影響を与えているものと考えられた。

検討は、明確な診断基準が存在し、疾患概念に対するconsensusも得られている、AIH, PBC, PSCの三面から検討した。しかし、暫定的指摘基準にPSCは2例しか含まれなかったため、実質的には7つの独立した説明因子を用いたロジスティック回帰モデルにより自己免疫性肝疾患をAIHと非AIHで検討するAIH側検討と、PBCと非PBCから検討するPBC側検討により論理診断を行った。得られた式による診断精度は感度、特異度、正診率とも高く、その有用性は高いものと思われた。

論理診断の結果、暫定的指摘基準症例は、ほとんどの症例がAIHかPBCであるためAIH側とPBC側に2分化されたが、それ以外の自己免疫性肝疾患を多く含むexclusion criteriaにより抽出された登録された症例もほとんどがAIHあるいはPBCの診断領域に位置する2極分化されることが判明した。このことは自己免疫性肝疾患全体はAIHとPBCに両極化している可能性を示し、それから外れる症例は極僅かであることを示唆している。

主治医診断がAICであった症例は、論理診断上ほとんどPBCの診断領域に含まれていた。臨床データ上をみると、主治医診断におけるAICとAMA陰性PBCおよびいわゆる典型的なPBCといえるAMA陽性PBCの三者間では性比、年齢、ALT、T.Bil、ALP比、IgGなどすべて類似しており、鑑別は極めて困難であった(表14)。この事実と、論理診断の結果はAICの存在を疑わしいものとしている。この問題解決には、今後AMA陰性PBC診断された症例で実際にAMAが陰性なのか、あるいは測定上の問題により陰性となっているのかを明らかにする必要がある。

overlap症候群と診断された症例のほとんどは論理診断ではAIHあるいはPBCの診断領域に含まれていた。論理的AIH確率0.5以上、論理的PBC確率0.5以上の症例は6例存在したが、内5例はAIHあるいはPBC確率が0.85以上であった。1例AIH、PBC確率ともに0.6前後の症例がみられたが、先述のように臨床的にもoverlap症候群が強く疑われる例であった。このことは、本論理診断の妥当性を示すものである。また、従来overlap症候群と診断されていた症例のほとんどがAIHあるいはPBCと診断されることより、実際は考

えられていたよりoverlap症候群の症例数は少ない可能性がある。今後、主治医診断にてoverlap症候群とされていた症例の追跡調査を行い、また、論理診断でも非典型例については詳細に検討する予定である。なお、経過とともに生じてくる異時的overlap症候群についての検討は今回行っておらず、今後の課題である。

今後、論理診断上の非典型例や論理診断と臨床診断の異なる症例について解析を進める予定である。さらに可能であれば、全データを用いたクラスター解析を行い、自己免疫性肝疾患の全容を明らかにしていく予定である。

図1.診断へのアルゴリズム

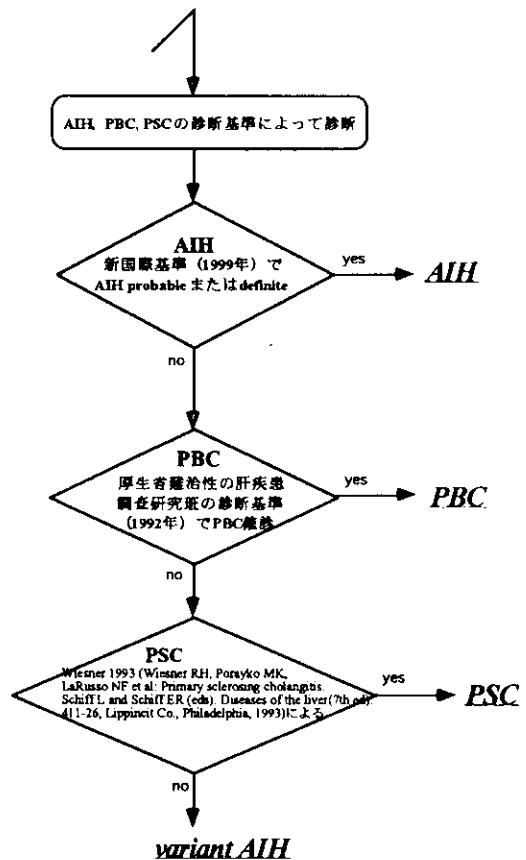
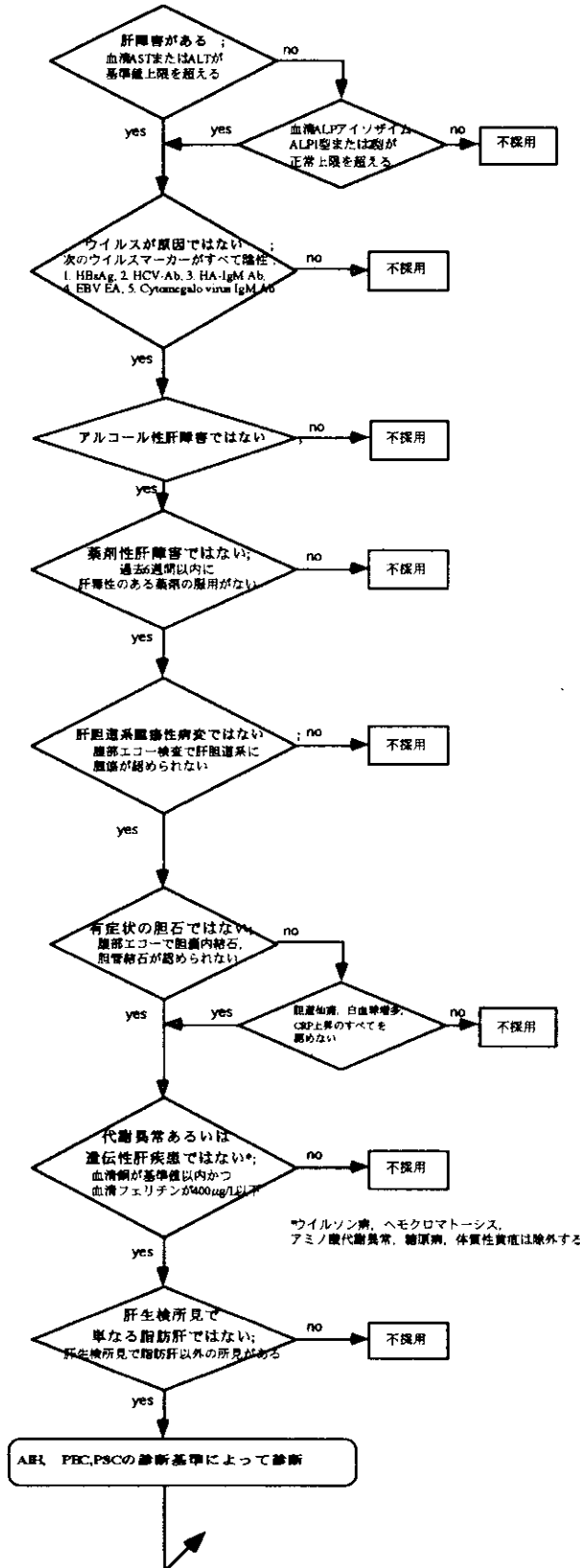


表 1. 自己免疫性肝疾患調査用紙

症例登録チェック項目

1. 肝障害がある はい□ いいえ□
 ALT, AST の上昇 and/or A/P などの胆道系酵素の上昇
2. 既知の肝炎関連ウイルスマーカーが陰性 はい□ いいえ□
 i. HBs 抗原陰性, ii. HCV 抗体陰性, iii. HA-IgM 抗体陰性,
 iv. EBV-EA 陰性 v. CMV-IgM 抗体陰性 など
3. アルコール性肝障害は否定できる はい□ いいえ□
4. 薬物性肝障害ではない はい□ いいえ□
 過去 6 週間以内に肝障害と直接関連する薬物の服用無し
5. 画像診断で肝・胆道系腫瘍を認めない はい□ いいえ□
6. 有症状の胆石症ではない はい□ いいえ□
7. 代謝異常あるいは遺伝性肝疾患でない はい□ いいえ□
 Wilson 病, ヘモクロマトーシス, グミノ酸代謝異常, 糖原病, 体質性黄疸を除外
8. 肝生検で単なる脂肪肝ではない はい□ いいえ□

全てが「はい」であった場合、本アンケートの登録症例になります。
 当研究班の診断指針および基準を参考に自己免疫性肝炎あるいは原発性胆汁性肝硬変を診断下さい。また原発性硬化性胆管炎については 1993 年の Wiesner の基準をもとに診断され、診断が得られた場合は該当部分にその内容を御記載下さい。

診断時検査所見

WBC : _____ /cmm	ALT : _____ IU/l
RBC : _____ 万/cmm	AST : _____ IU/l
Hb : _____ g/dl	T.Bil : _____ mg/dl
Plate : _____ 万/cmm	ALP : _____ (単位)
PT : _____ %	(施設正常値 : _____)
	γGTP : _____ IU/l
	(施設正常値 : _____)
	T.Chol : _____ mg/dl
	γ-gl : _____ %
	IgG : _____ mg/dl
	IgM : _____ mg/dl
	IgA : _____ mg/dl

自己抗体

ANA (IF) : _____ 倍 染色パターン (_____)
 ANA (ELISA) : _____
 ASMA : _____ 倍
 AMA (IF) : _____ 倍
 抗PDH抗体 : _____ 倍
 抗OGDC-E2抗体 : _____ 倍
 抗BOAC-E2抗体 : _____ 倍
 イムノプロット : _____Kd, _____Kd
 _____Kd, _____Kd, _____Kd
 ANCA : _____ 倍
 その他の自己抗体 : _____

画像診断

慢性肝炎を疑わせる所見 : あり なし
 脾腫 : あり なし
 胆管病変 : あり なし
 (MRC : 試行 未施行)

登録症例臨床記載用紙

登録施設名 _____
 登録医師名 _____
 登録医師連絡先 電話 : _____
 Fax : _____
 Email : _____@_____
 患者イニシャル _____
 カルテ番号 : _____
 生年月日 : 西暦 _____年 _____月 _____日 診断 : 19____年 _____月 (_____歳)
 性別 : 男・女
 肝生検番号 : _____ 試行日 : 西暦 _____年 _____月 _____日

- 診断 : 自己免疫性肝炎 (AIH)
 原発性胆汁性肝硬変 (PBC)
 原発性硬化性胆管炎 (PSC)
 自己免疫性胆管炎
 その他 (cryptogenic CAH など)
 outlier
 overlap (_____) と (_____)

既往歴 : _____
 飲酒歴 : 日本酒換算 _____合/1日, 週 _____日, _____年間
 _____年以降禁酒

輸血歴 : _____年
 手術歴 : _____
 合併症 : _____
 他の自己免疫疾患の合併 : _____

家族歴 : _____
 診断時症状 :
 倦怠感 あり なし 掻痒感 あり なし
 黄疸 あり なし 食欲不振 あり なし
 発熱 あり なし 腹痛 あり なし
 その他 あり なし
 (_____)

組織所見

F : _____, A : _____
 (以下の項目は 0 : 全く無い, 3 : 高度で判断ください)
 interface hepatitis : 0, 1, 2, 3 肝細胞ロゼット : 0, 1, 2, 3
 実質炎 : 0, 1, 2, 3 胆管障害像 : 0, 1, 2, 3
 CNSDC : 0, 1, 2, 3 胆管消失 : 0, 1, 2, 3
 プラズマ細胞浸潤 : 0, 1, 2, 3 好酸球浸潤 : 0, 1, 2, 3
 肉芽腫形成 : 0, 1, 2, 3 胆汁鬱滞 : 0, 1, 2, 3
 onion skin : 0, 1, 2, 3

治療反応性

1 : トランスアミナーゼ正常化, 2 : 50%以上改善, 3 : 50%未満改善,
 4 : 無変化, 5 : 増悪, 6 : 無投与
 1~5 の場合投与量を御記載下さい
 副腎皮質ステロイド : _____ 投与量 : _____mg/日
 UDCA : _____ 投与量 : _____mg/日
 その他薬物名 : _____ 投与量 : _____

その他 コメント

