

図4. 同一例のPSL前後における肝組織内CD陽性率

D. 考察

CD25はIL-2レセプターであり、活性化したリンパ球で発現が認められる。同様にCD69抗原は共通のcore proteinを有するが、異なる糖鎖付加のため分子量の異なる2分子の糖蛋白 (34/28kDa) から構成される60kDaのホモ二量体である。チロシン残基にリン酸化が認められ、CD69抗体を用いた架橋反応により細胞内カルシウム濃度の上昇が認められることから、細胞内シグナル伝達との関係が指摘されている。まだ詳細は明らかではない。CD25、CD69などを検索することは、生体内におけるリンパ球の分布率ではなく、リンパ球の活性化状態を把握し、種々の抗原刺激に対する機能を知ることとなる。今まで、自己免疫性肝炎患者の肝組織内リンパ球の早期活性化抗原を検索した報告はなく、自己免疫性肝炎患者の免疫的病態解明とともに治療の効果についての解析は意義があると思われるため今回の解析を行った。AIH群では末梢血リンパ球T細胞CD3、CD4、CD8における活性化マーカーCD25やCD69陽性率は他の肝疾患群よりも高く、肝組織内CD25やCD69陽性率も他の肝疾患に比べ高値を呈する傾向が認められたが、末梢血中と肝組織内のCD陽性率は相関していなかった。肝組織内の陽性率に影響するものとしてIgG値の高低、グ鞘域のリンパ球浸潤の強さ、繊維化、ステロイド治療、完全寛解の有無が挙げられるが、ALT値の高低やビリルビン値の高低は関係しなかった。

E. 結論

末梢血中と肝組織内のCD陽性率は他の肝疾患に比べ高値ではあったが、互いに相関はなかった。肝組織内の陽性率に影響するものとしてIgG値の高低、グ鞘域のリンパ球浸潤の強さ、繊維化、ステロイド治療、完全寛解の有無が挙げられた。今回の検討では既存のAIHの活動性の指標に勝るものがなかったが、個体差が大きく、肝組織内のCD25やCD69の陽性率を症例数を増やし、時期を違えた生検例で検討していくことはAIHの病態解明に結びつく可能性があると考えられ

た。

F. 健康危険情報
特になし

G. 研究発表
特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

自己免疫性肝炎におけるRegulatory T cell(CD4+CD25+)の関与

研究協力者 熊田 博光 虎の門病院 消化器科部長

研究要旨: 自己免疫性肝炎 (Autoimmune hepatitis: AIH) の肝細胞障害については諸説紛々としており、未だ一定の見解が得られていない。この要因としては、本疾患の確定診断が難しく、本邦においては稀な疾患であり対象症例が少ないことがあげられる。また、近年では非定型例の存在や、AIHの発症の際にその特徴である高 γ -glob.血症や抗核抗体の出現を伴わない急性発症例も報告されている。そこで、我々は昨年度も報告してきたように、1999年に新しく提唱されたscoring system¹⁾によりdefinite AIHと診断された症例を対象とし、これらのうち急性発症した症例と慢性経過した症例を比較検討することで、本疾患の肝細胞障害機序にどのような違いがあるかを検討した。本年度は、AIHにおけるCD4+CD25+、CD8+CD25+陽性細胞がどのように関わっているかにつき報告する。

A. 研究目的

昨年度、我々は自己免疫性肝炎 (AIH) の急性発症例における肝細胞障害につき検討を加えた。その結果、急性期には確定診断がつかず、その後の経過観察中に初めて自己免疫性肝炎と確定診断される症例が少なからずあることを報告した。このような問題の一番の原因は特異的な自己抗体の無いこと、現行の診断指針では診断がつきにくいことが挙げられる。そこで、本年度も、自己免疫性肝炎のうち急性発症した症例と非ウイルス性急性肝障害の症例に焦点をあて、何が病態に関与しているのかを明らかにすることを目的とした。最近の三年間の間に新たにAIHと診断された症例については、初回治療の前から測定を開始し、また以前より当院通院中の症例においては、保存血清を用いて経過中の治療反応性により免疫応答の変化についても検討を行った。

B. 対象と方法

対象は昨年度と同様とし、2001年3月現在当院外来通院中で経過観察を継続していることを確認しえたAIH症例52例と、非ウイルス性急性肝障害12例で、いずれも組織学的検索を施行している症例を対象とした。このうち当院初診時のALT値が250以上の症例をAIH急性発症群とし、それ以外のAIH慢性経過群と、非ウイルス性急性肝障害群と診断された12例につき以下の各項目において比較検討を行った。肝胆道系酵素、各種ウイルスマーカー、自己抗体、IgG、IgM、組織学的検査であり、可能なかぎりHLA-DRB1についての検討も行った。

抗核抗体は間接蛍光抗体法(Hep-2細胞)、抗平滑筋抗体は間接蛍光抗体法、抗LKM1抗体は蛍光抗体法、HBs抗原はRIA法、HCV抗体はEIA(第3世代)、HCV-RNAはRT-PCR法、HLA typingは血清学的方法(判定困難な場合PCR-MPH法)を用いて測定した。今回の検討では、DR2, 3, 5, 6については、DR11-18に分離して解析を行った。さらに、治療開始時より測定を開始した症例は、末梢血よりリンパ球を分離し、抗

CD3抗体で固相したプレートで24時間培養した上で、フローサイトメーターにより解析と培養上清中のサイトカインを測定した。統計学的解析はカイ二乗検討を用いた。

C. 研究結果

まず、AIHのうち急性発症型とされたものは11例(21.2%)存在し、初診時および初回肝生検時にAIHと診断された症例はわずか4例にすぎなかった。初診時のALT値IgG値の比較では、AIH急性発症群ALT値387IU/l(256-2640)、IgG値2220mg/dl(1858-2940)、AIH慢性経過群92IU/l(22-234)、2658mg/dl(2310-4632)、非ウイルス性急性肝障害群186IU/l(88-452)、1274mg/dl(870-2520)であり、AIH急性発症群ではIgG値が慢性経過群に比して低い傾向が認められた。組織学的検索では、初回肝生検時に慢性経過群41例中38例に確定診断がえられ、急性発症型でも11例中8例はAIHと診断しうる結果であった。また、非ウイルス性急性肝障害群のなかでAIHの可能性のあるものは2例であった。AIH急性発症型において、当初AIHと確定診断しえなかった理由は、組織学的にAIHと診断されても初期の段階ではIgGが低かったりANAが低値であったりして診断基準を満たさなかった事が一番の要因であった。これらの症例のなかには、2度目の急性増悪で診断がつく症例もあり、この時点で組織学的に進行していた。AIH症例中、HLAの出現頻度は、DR4, DR8, DR15, DR14の順に多く、急性発症型においては9例中8例にDR4, DR15が認められた。治療開始前より測定したフローサイトメーターによる解析では、cytotoxic T cell (CTL)の活性化を示すCD8+CD25+細胞の推移において両群間に差が認められた。急性発症群4例と慢性経過群11例について検討を行ったが、治療前値は、急性群24.2%群に対して、慢性群13.6%と急性群が有意に高かった。治療開始後は、1週目、2週目とも慢性経過群の方が高く、減少率では急性群が有意な差をもって減少していた。CD4+CD25+細胞の推移は急性発症群と慢性経過群の間に

差を認めなかったが、ステロイド治療開始と共に両群とも増加する傾向にあった。また、治療反応性のよい群では、CD4+CD25+細胞の増加が認められた。

D. 考察

AIHの肝細胞障害については、Antibody-dependent cell cytotoxicity(ADCC)がその主たる要因であるとする報告をはじめとして諸説あるが、未だその結論はでていない。今回の我々の検討では、AIHも急性期においてはCTLを介した肝細胞障害が主体であり、障害が進むにつれADCCに主体が移っていく可能性が示されたといえる。このことは、急性発症例においては発症期に高 γ -glob.血症や抗核抗体などの免疫応答がまだ揃わないという結果の裏付けにもなると考えられる。肝細胞障害発症の当初はCTL-MHC class1を介した系がまず働き急激な障害が進み、その後、helper T cell-MHC class2を介した系により自己免疫性肝炎としての様相を整えていき、その後の病態形成には、regulatory T cellやTh1/Th2のバランスが大きく関わってくるのではないかと推察される。これは、本疾患がHLAのDR抗原に深く関わっていることも支持する結果であり、興味のもたれる点である。このため、当院でも自己免疫性肝炎とHLA typingの関係について検討した。

36例中DR4またはDR15陽性者は33例(91.7%)と高率で、他報告例との差を認めないが²⁹⁾、治療反応性の良好な症例では、DR14陽性例が多い傾向がみられ、組織学的にも改善している例が多かった。HLA-DR抗原が自己免疫性肝炎の病態に影響を与えている可能性については、HCV陽性例、又、他の自己免疫性肝炎におけるDR抗原の特徴的なパターンの検索において一定の傾向が認められることより、明らかである³⁵⁾⁶⁾。本邦のAIH症例では、DR4が高頻度に陽性であり、欧米では、DR3が高頻度である。さらに欧米ではDR3陰性者ではDR4が高頻度である事より、お互いに独立した疾患感受性遺伝子であると考えられている。この事はPBMC及び肝内浸潤リンパ球を用いた報告でも検討されている。肝内浸潤リンパ球が肝細胞あるいは肝細胞由来の自己抗原に感作されていること、門脈域浸潤リンパ球においても、AIHではnon-AIHに比べてCD4陽性細胞優位であるとの報告があり、病態にclass IIが関与している事を示唆しており、DR 4、DR 15が重要な因子であると考えられる⁷⁾。又さらにLKM-1抗体陽性のAIHにおいて、LKM-1特異的T細胞のcell lineを用いたcytokine産生能の検討からTh1細胞優位であるとの報告もあり、AIHの病態におけるclass IIを介したCD4細胞が重要な役割を担っていると考えられる⁸⁾。今回の我々の検討では、発症時期および治療開始時期のCD4+CD25+細胞とCD8+CD25+細胞の変化を検討したのみであるが、今後はさらに症例数を増やすこと、組織学的変化、治療の反応性とMHC-class2抗原がどのように関わっているかについて検討を行い病態形成におけるDR抗原の役割について研究を続けていきたいと考えている。

E. 結論

AIHの急性発症例における肝細胞機序にはCTLを介した系が重要な役割を担っていると考えられた。このことが、急性発症例の診断困難例における血液マーカーの変化の少なさの原因である可能性があり今後の診断における課題の一つであると考ええる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 鈴木義之、池田健次、斎藤聡、他。自己免疫性肝炎(AIH)の病態とHLA-DR抗原についての解析。消化器と免疫 No35:188-190,1998.
- 2) 鈴木義之、熊田博光。自己免疫性肝炎(Autoimmune hepatitis:AIH)の長期予後 ミレニアム消化器2000 200-203,2001.
- 3) 鈴木義之。自己免疫性肝疾患 year note 2003 183-194,2003
- 4) Suzuki Y. et al: Clinical and pathological characteristics of the overlap syndrome on autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis in Japan. Journal of Gastroenterology and Hepatology in press
- 5) Suzuki Y. et al: The implication of peripheral CD8+/CD25+lymphocytes in hepatocellular injuries in patients with acute-onset autoimmune hepatitis. Journal of Gastroenterology in press

2. 学会発表

- 1) 鈴木義之、熊田博光。第5回日本消化器免疫学会総会 1998。自己免疫性肝炎(AIH)の病態とHLA-DR抗原についての解析。
- 2) 鈴木義之、熊田博光。第2回日本肝臓学会大会 1998。わが国における自己免疫性肝炎の予後。一長期観察例における自己免疫性肝炎の病態と予後。
- 3) 鈴木義之、熊田博光。第86回日本消化器病学会総会 2000。自己免疫性肝炎の今後の展開—自己免疫性肝炎の長期予後
- 4) 鈴木義之、熊田博光。第88回日本消化器病学会総会 2002。本邦における難治性肝疾患の実態と変遷—自己免疫性肝炎の変遷と最近の動向

文献

1. International Autoimmune Hepatitis Group: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. Journal of Hepatology 1999; 31:929-938
2. Seki T, et al: Association of autoimmune hepatitis with HLA-Bw54 and DR4 in Japanese patients. Hepatology 1990 Dec; 12(6): 1300-1304
3. Zeniya M, et al: Immunogenetic background of hepatitis B virus infection and autoimmune hepatitis in Japan. Gastroenterol Jpn 1993 Mar; 28 Suppl 4:69-75

4. Zeniya M, et al: HCV-marker-positive autoimmune-type chronic active hepatitis: a possible relation between HCV infection and liver autoreaction. *Liver* 1994 Aug; 14(4): 206-212
5. Parveen S, et al: Antibodies to Ro/La, Cenp-B, and snRNPs antigens in autoimmune hepatitis of North America versus Asia: patterns of immunofluorescence, ELISA reactivities, and HLA association. *Dig Dis Sci* 1998 Jun; 43(6): 1322-1331
6. Donaldson PT, et al: Immunogenetics in liver disease. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1996 Sep; 10(3): 533-549
7. Schlaak JF, et al: Analysis of the in vitro cytokine production by liver-infiltrating T cells of patients with autoimmune hepatitis. *Clin Exp Immunol* 1993 Oct; 94(1): 168-173
8. Lohr HF, et al: Autoreactive CD4+ LKM-specific and anticlonotypic T-cell responses in LKM-1. *Hepatology* 1996 Dec; 24(6): 1416-14

Con A誘発マウス肝炎モデルを用いた免疫学的肝細胞障害の発症と治療法の検討

研究協力者 中村 公英 旭川医科大学内科学第二講座 助教授

研究要旨：Con A誘発マウス肝炎モデルは、Con Aにより肝内に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 が肝細胞障害発症に関わっていることから、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ることが報告されてきた。我々は本モデルにおいて、TNF- α やIFN- γ の他、マウスCXCケモカインであるMacrophage inflammatory protein-2 (MIP-2)やCCケモカインであるMIP-1 α が肝障害発症に深く関わっていることを報告してきた。今年度の研究成果として、内因性プロスタグランジン (PG) 系がこれらのサイトカイン、ケモカイン産生調節に関与し、肝障害発症に深く関わっていることを明らかにした。

A. 研究目的

様々な炎症性疾患において、内因性PGが病態や病変部の修飾に重要な役割を果たしていることが知られているが、肝疾患における関与についてはいまだ十分解明されていない。我々はこれまでにCon A投与後、早期に種々のサイトカインやケモカインが血中に増加し、Con A肝障害の増悪因子としてはたらくことを報告した。今回、Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) を用い、内因性PG系のCon A肝障害モデルに対する関与とCon A投与後のサイトカイン、ケモカイン産生能に対する影響を検討した。

B. 研究方法

7-8週令の雌性BALB/cマウスにCon A (Type IV, Sigma社) 15 mg/kgBWを0.3 mlの生理食塩水に溶解し、マウス尾静脈から1回静注することにより肝障害モデルを作製した。NSAIDsとしてIndomethacin (0, 5, 15 mg/kgBW, Wako社) を1%NaHCO₃水溶液0.5 mlに溶解し、Con A投与30分前に腹腔内投与した。Con A投与8時間後の血中GPT値を酵素法 (Wako社キット) で、血中6-keto-PG-F1 α 、TNF- α 、IFN- γ 、IL-10、MIP-2濃度をELISA法 (6-keto-PG-F1 α ; Assay Designs社、TNF- α 、IFN- γ 、IL-10; Genzyme社、MIP-2; IBL社キット) を用いて測定した。また、15 mg/kgのIndomethacin投与後、マウスrecombinant TNF- α (IBL社) 2 μ gを0.2 mlの生理食塩水に溶解、静注し、2時間後の血中MIP-2産生能に対するNSAIDsの影響を検討した。統計学的検討は、血清GPT値ならびに血中6-keto-PG-F1 α 、TNF- α 、IFN- γ 、IL-10、MIP-2濃度の結果をMean \pm SEで示し、有意差検定は分散分析 (ANOVA) にて行った。

本実験にあたってはあらかじめ旭川医科大学動物実験委員会の承諾を得、さらにNIHの実験動物取り扱い規約に基づいて行った。

C. 研究結果

1. Con A投与後の血中6-keto-PG-F1 α に対するNSAIDsの影響

Con A投与後 Prostacyclin 代謝物である6-keto-PG-F1 α 濃度は投与後4時間をピークに上昇した。一方、Indomethacin 5 mg/kgBWの前投与は8時間後の6-keto-PG-F1 α 濃度を有意に抑制した(図1)。

2. Con A肝障害に対するNSAIDsの影響

Indomethacin単独投与では肝障害は認められなかったが、Con A投与前にIndomethacinを前投与すると、Con A投与8時間後の血中GPT値は対照群に比べ有意に上昇し、また、肝障害増悪作用はIndomethacin投与量依存性であった(図2)。

3. Con A投与後の血中サイトカイン、ケモカイン産生能に対するNSAIDsの影響

Indomethacin前投与によりCon A投与8時間後の血中TNF- α 値は15mg/kgBW投与群において有意に上昇し、血中IFN- γ 値は5、15mg/kgBW両投与群において有意に上昇した(図3a、3b)。また、血中MIP-2値も5、15mg/kgBW投与両群において用量依存性に有意に上昇した(図3c)。一方、血中IL-10値は15mg/kgBW投与群においてのみ有意に上昇した(図3d)。

4. TNF- α によるMIP-2産生とNSAIDs前投与の影響

我々は既にTNF- α により血中にMIP-2が誘導されることを報告している。Indomethacin単独投与では血中にMIP-2は誘導されなかったが、Indomethacin 15mg/kgBWを前投与し、2 μ gのマウスTNF- α を投与するとTNF- α 単独投与に比べ血中MIP-2は有意に上昇した(図4)。

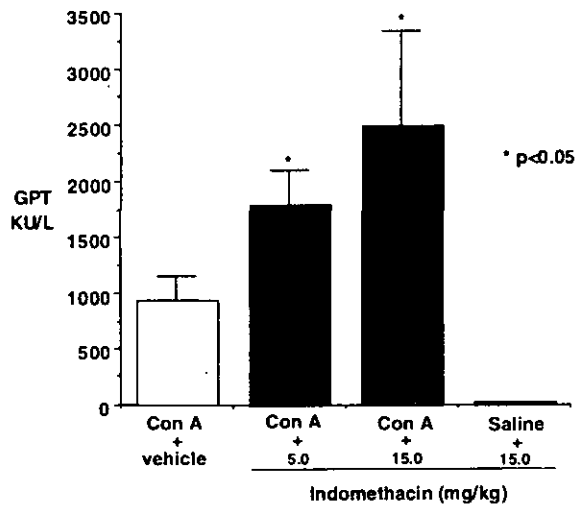


図1. 血中6-keto-PGF_{1α}値に対するNSAIDsの影響

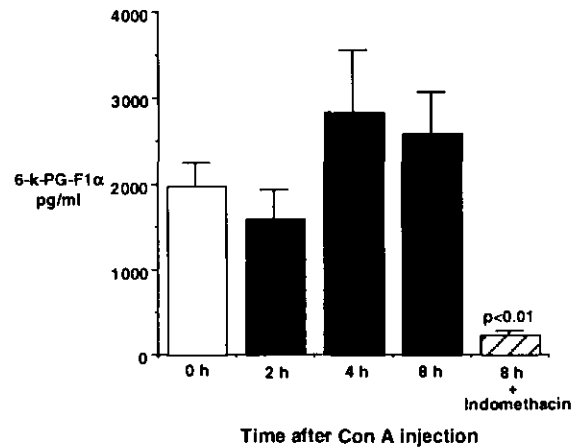


図2. 血中GPT値に対するNSAIDsの影響

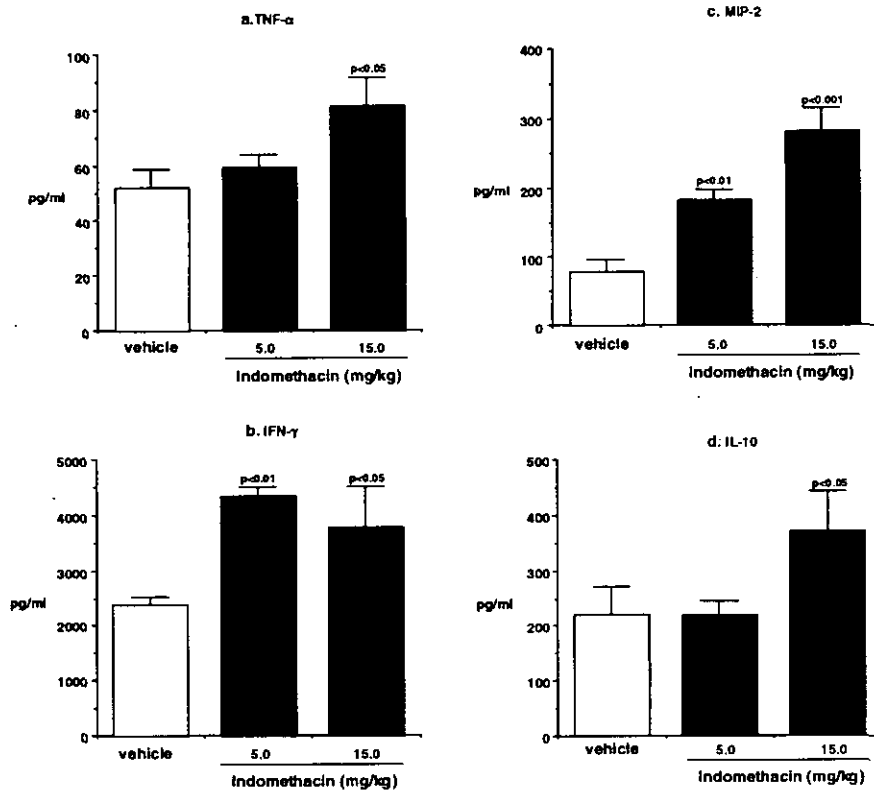


図3. 各種Cytokine、Chemokine産生に対するIndomethacinの影響

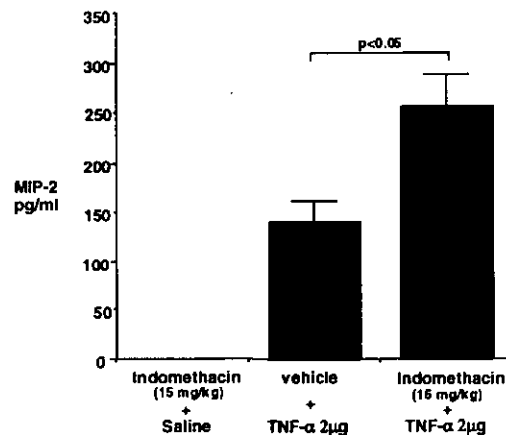


図4. NSAIDsによるTNF-αのMIP-2誘導促進

D. 考察

Con A誘発マウス肝炎モデルはCon Aにより肝内に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、催炎症性サイトカインであるTNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β が肝細胞障害発症に関わっていることから、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ることが報告されてきた。一方、最近我々は、Con A肝障害モデルにおいてTNF- α によりマウスCXCケモカインのMIP-2が誘導され、多核白血球を肝組織内へ遊走活性化し肝障害発症に関与することを見だし、さらに、抗凝固剤であるAntithrombin IIIがMIP-2産生抑制とProstacyclin産生促進を介して肝障害発症を阻止することを報告した。今回、NSAIDsを用いて、Con A肝障害とサイトカイン、ケモカイン産生能に対する内因性PG系の影響について検討した。

今回の検討では、Con A投与後血中にProstacyclinの代謝物である6-keto-PG-F1 α が増加し、Indomethacinの前投与によりその産生は著明に抑制された(図1)。また、Indomethacinの前投与は、Con A肝細胞障害を用量依存性に増悪させた(図2)。また、その作用機序としては、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-2などの催炎症性サイトカイン、ケモカイン産生を促進することが明らかとなった(図3)。さらに、Indomethacinの前投与はTNF- α によるMIP-2誘導を増強することが明らかとなった(図4)。即ち、Con A肝障害モデルにおいてNSAIDsは内因性PG系を抑制し、TNF- α やIFN- γ 産生を促進し、肝細胞のapoptosisを誘導するとともに、MIP-2産生を促進し、肝組織中多核白血球の遊走、活性化により免疫学的肝細胞障害を増悪させることが示唆された。

NSAIDsにより消化管粘膜障害が発症することは古から広く知られている。消化管粘膜障害の発症機序としては、NSAIDsによる粘膜内TNF- α 産生亢進とひき続いて起こる粘膜内多核白血球浸潤が微小循環障害を引き起こすことが一因と報告されている。また、多核白血球浸潤にはTNF- α による血管内皮細胞のICAM-1発現やMIP-2と相同性のCXCケモカインであるIL-8誘導が関与し、NSAIDsはTNF- α によるIL-8誘導を増強することも報告されており、今回の我々の知見と一致していると考えられる。

一方、NSAIDsにより肝内の多核白血球が増加することや、慢性エンドトキシン投与による肝類洞内多核白血球粘着数がNSAIDsにより増加することが報告されている。しかし、これらの報告では多核白血球浸潤に関するサイトカインやケモカインの関与については明らかにされていない。今回の検討により内因性PG系はTNF- α によるMIP-2産生を抑制することが示唆された。PG産生調節にはCOX-1、COX-2が関与し、今回用いたIndomethacinはCOX-1、COX-2非選択性薬剤である。COX-2選択性のNSAIDsは消化管粘膜障害作用が弱いことが知られており、今後COX-1、COX-2それぞれの選択性NSAIDsが免疫学的肝細胞障害において異なる作用を有するか否かについて検討を行う必要があると考えられる。

E. 結論

Con A肝障害の発症機序には内因性PG系が関与し、NSAIDsによる内因性PG産生抑制はTNF- α やIFN- γ などの炎症性サイトカインやCXCケモカインであるMIP-2産生を促進し、Con A肝細胞障害を増悪させた。今後さらに詳細な作用機序について検討が必要であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Gender-related differences in concanavalin A-induced liver injury and cytokine production in mice. *Hepatology* 27:221-229, 2003.
 - 2) High molecular weight but not low molecular weight hyaluronan prevents T cell mediated liver injury by reducing proinflammatory cytokines in mice. *J Gastroenterol* in press, 2004.
2. 学会発表
 - 1) 第89回日本消化器病学会総会
未成熟マウスにおけるConcanavalin A (Con A)誘発肝細胞障害の発症機序とIL-7の関与. *日消誌*100: Suppl A234, 2003.
 - 2) 104th annual meeting of the American Gastroenterological Association. High molecular weight but not low molecular weight hyaluronan prevents Concanavalin A-induced liver injury by reducing proinflammatory cytokines in mice. *Gastroenterology* 124:suppl A-721, 2003.
 - 3) 104th annual meeting of the American Gastroenterological Association. Interleukin 7 exacerbates Concanavalin A-induced liver injury and cytokines production in immature mice. *Gastroenterology* 124:suppl A-722, 2003.

H. 知的財産権の出願登録状況

1. 特許所得
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

自己免疫性肝炎(AIH)肝細胞障害におけるeffector細胞に関する検討

研究協力者 栗山 茂樹 香川医科大学第三内科 教授

共同研究者

黒河内和貴、正木 勉、渡辺精四郎

はじめに

自己免疫性肝炎 (AIH) における肝細胞障害機序では、実際に肝細胞を障害するeffector細胞が何であるかに関して、対応抗原と同様にこれまでのところ明確な回答は得られていない。しかし、活性化されたT細胞が肝細胞障害にとって重要な役割を担っていると考えられている。T細胞は樹状細胞をはじめとする抗原提示細胞 (APC) よりシグナルを受けるが、この際costimulatory分子を介する副シグナルがT細胞の活性化にとってきわめて重要であることが明らかとなっている(1)。しかし、AIHとこれらcostimulatory分子との関連については不明の点が多い。我々はこれまでに、AIHにおける末梢血単核球 (PBMC) および肝臓内浸潤単核球 (LIMC) におけるT細胞関連表面抗原との関連性についての検討を行ってきた。中でもT細胞の活性化と関連するcostimulatory分子についての検討を行い、AIH患者のLIMCにおいては、CD80、CD86陽性細胞が有意に増加しており、AIHの診断の補助因子として有用であること、さらにステロイド治療効果と相関することなどを報告してきた(2)。今回は、CD80、CD86分子のリガンドのうち特に重要であるCD28陽性細胞とAIHとの関連性について検討し、肝細胞障害のeffector細胞が何であるかについての考察を行った。

対象と方法

抗核抗体 (ANA) 陽性で国際診断基準においてprobable以上のAIHと診断された28例 (男性2例、女性26例) を対象としPBMCの解析を行った。このうち肝生検を施行した12例についてLIMCの解析を行った。健常人25例を対照とし、疾患対照群としては、C型慢性肝炎 (CH) 患者10例を検討した。PBMCは末梢血より、LIMCは16ゲージ肝生検針により採取した約1cm長の肝組織よりFicoll-Conray比重遠心法により調整した。調整後、抗CD4抗体、抗CD8抗体、抗CD28抗体により処理後、flow cytometryにより陽性細胞比率を測定した。

結果

健常人とAIH患者PBMCの検討では、ステロイド非投与症例でCD4陽性細胞は健常人と比べ有意に減少しており、ステロイド投与症例では健常人と同等に回復していた。一方、CD8陽性細胞については、ステロイド非投与症例においては有意差を認めなかったもの

の健常人と比べ低下しており、ステロイド投与症例においては有意に低下していた。さらには、CD28陽性細胞については、ステロイド非投与症例、投与症例いずれにおいても健常人と比べ有意な低下をみとめた。以上のようにPBMC中のCD4、CD8、CD28陽性細胞はそれぞれ異なった動態を示すことが予想された(表1)。

次に、CD28分子は主にCD4、CD8細胞に発現していることがわかっているため、PBMC中のCD4陽性、CD8陽性細胞のCD28陽性、陰性細胞分画についての検討を行った。CD28陽性CD4陽性細胞は、CD4陽性細胞とほぼ同様の動態を示していた。つまり、ステロイド非投与AIH患者においては健常人と比べ有意に低下しており、ステロイド投与患者においては健常人との間に有意差を認めなかった。CD28陰性CD4陽性細胞分画は、各群間で有意差を認めなかった。一方、CD28陽性CD8陽性細胞については、ステロイド非投与、投与患者いずれにおいても健常人と比べ有意な低下を認めた。CD28陰性CD8陽性細胞については、CD28陰性CD4陽性細胞と同様各群間で有意差は認めなかった(表2)。

次に、AIH診断のために肝生検を施行した症例の肝組織中より単核球を調整し、CD28、CD4、CD8陽性細胞比率とALT値、あるいは肝臓の炎症の程度を表すHAIスコアとの関連性についての検討を行った。全CD4陽性細胞についてはHAIスコア、ALTいずれとも有意な正の相関を示し、全CD8陽性、全CD28陽性細胞では有意な相関は認めなかった。CD28陽性CD4陽性細胞に関しては、HAIスコアと有意な正の相関を示し、CD28陰性CD4陽性細胞は、ALT値と正の相関を示したが、CD28陽性CD4陽性細胞とALT値、あるいはCD28陰性CD4陽性細胞とHAIスコアとの間には有意ではないものの、概ね正の相関を示していた。一方CD8陽性細胞については、CD28陽性CD8陽性細胞と、HAIスコアおよびALT値との間に有意な相関は認められず、CD28陰性CD8陽性細胞のみHAIスコア、ALT値ともに有意な正の相関を示した。対象疾患であるCH患者LIMCについての検討では、CD28陰性CD8陽性細胞のみがALT値と有意な正の相関を示しており、CD4陽性細胞とALT値との相関は弱かった(表3)。

肝組織中のCD28陽性細胞の局在についての免疫組織学的な検討では、CD28陽性細胞は主に門脈周辺に多く存在しており、肝実質内にはあまり認められなかった(成績非提示)。

表 1. Analysis of Tcell-related surface molecules on PBMC

	CONTROL (N=28)	AIH (without steroids) (N=15)	AIH (with steroids) (N=14)
CD4 (%)	43.2 ± 9.52	33.3 ± 9.01 (0.025)	43.2 ± 14.8 (0.99) [0.031]
CD8 (%)	37.5 ± 8.58	30.8 ± 13.7 (0.11)	23.9 ± 11.3 (0.0009) [0.13]
CD28 (%)	71.2 ± 11.1	30.4 ± 15.6 (0.0018)	44.0 ± 15.9 (0.0005) [0.88]

(): p value vs. CONTROL
[]: p value vs. AIH (with steroids)

表 2. Analysis of CD28(+) or CD28(-) PBMC in patients with AIH

	CONTROL	AIH (without steroids)	AIH (with steroids)
CD28(+)CD4(+)	41.4 ± 8.83	33.3 ± 8.61 (0.033)	42.8 ± 13.4 (0.48) [0.04]
CD28(-)CD4(+)	2.63 ± 2.39	2.86 ± 3.48 (0.81)	3.29 ± 1.83 (0.46) [0.68]
CD28(+)CD8(+)	25.1 ± 10.5	14.3 ± 8.25 (0.0033)	11.9 ± 6.26 (0.0002) [0.52]
CD28(-)CD8(+)	12.3 ± 6.18	16.4 ± 11.8 (0.23)	12.0 ± 10.0 (0.91) [0.24]

(): p value vs. CONTROL
[]: p value vs. AIH (with steroids)

表 3. Correlation of the level of CD28(+) or CD28(-) LIMC with HAI score and ALT level

Surface Marker	Correlation coefficients (r) with HAI score		Correlation coefficients (r) with ALT level	
CD28(+)	0.02	(0.65)	0.20	(0.47)
CD4(+)	0.63	(0.027)	0.69	(0.045)
CD8(+)	0.08	(0.82)	0.42	(0.11)
CD28(+)CD4(+)	0.82	(0.0062)	0.43	(0.24)
CD28(-) CD4(+)	0.59	(0.092)	0.65	(0.04)
CD28(+)CD8(+)	0.19	(0.59)	0.10	(0.69)
CD28(-)CD8(+)	0.71	(0.032)	0.69	(0.0041)

考察

我々はこれまで、抗アポトーシスタンパクである bcl-2陽性単核球について検討し、AIHではPBMCでも LIMCでも bcl-2陽性細胞が他疾患や健常人に比し著明に増強していることを明らかとし、この細胞群が主に Th1タイプの CD4陽性細胞であることを報告している(3)(4)。さらに、この bcl-2陽性細胞は肝炎の炎症の程度と正の相関を示していた。これらのことと今回得られた成績を総合的に評価すると、AIHにおいては、CD28陽性 bcl-2陽性の CD4陽性細胞が肝炎の炎症の程度と相関し、門脈周辺に多く集簇しており、これらの細胞が CD8陽性細胞を誘導していることが推察され、この CD4陽性細胞の肝細胞障害への関与は、CHより大きいと考えられた。また、CD8陽性細胞分画において

は、CD28陰性 CD8陽性細胞のみが HAI スコアや ALT 値と正の相関を示したことより、肝細胞障害を引き起こす矛先の細胞は CD28分子を欠損した CD8陽性細胞であることが予想された(5)。このことは、C型肝炎患者においても同様な成績であり、AIH、C型肝炎に関わらず CD28陰性 CD8陽性細胞が肝細胞障害の effector細胞として重要である可能性を示唆している。最近、CD28陰性 CD8陽性細胞は、CD28陽性 CD8陽性細胞が活性化されることによって分化、誘導されることが in vitroの検討で報告されている(6)。このような分化、誘導が AIHにおいても肝臓内でおこっており、肝細胞障害に関与しているか否かについてさらなる検討を要すると思われた。

文献

- Boussiotis VA, Freeman GJ, Gribben JG, Nadler LM. The role of B7-1/B7-2:CD28/CTLA-4 pathways in the prevention of anergy, induction of productive immunity, and down-regulation of the immune response. *Immunol Rev* 153: 47, 1996
- 栗山茂樹、黒河内和貴、渡辺精四郎、正木勉、自己免疫性肝炎病態とcostimulatory moleculeとの関連性についての検討、厚生労働科学研究補助金、難治性の肝疾患に関する研究、平成14年度 総括・分担研究報告書、12-14.
- 西岡幹夫、有馬啓治、谷内田美景、黒河内和貴、自己免疫性肝炎におけるbcl-2陽性リンパ球の形質と経時的変化について、厚生省特定疾患難治性の肝疾患調査研究班・平成9年度 研究報告、18-19.
- 西岡幹夫、有馬啓治、谷内田美景、黒河内和貴、自己免疫性肝炎における肝細胞障害機構—リンパ球におけるbcl-2の発現およびcostimulatory分子の関与、厚生省特定疾患難治性の肝疾患調査研究班・平成10年度 研究報告、23-25.
- Kurokohchi K, Masaki T, Miyauchi Y et al: CD28-negative CD8-positive cytotoxic T lymphocytes mediate hepatocellular damage in hepatitis C virus infection. *J Clin Immunol* (in press).
- Posnet DN, Edinger JW, Manavaian JS et al: Differentiation of human CD8 T cells: implications for in vivo persistence of CD8+CD28- cytotoxic effector clones. *Int Immunol* 11, 229-241, 1999

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

自己免疫性肝炎におけるステロイド中断後の予後に及ぼす因子の解析

研究協力者 森實 敏夫 神奈川歯科大学附属病院内科 教授

研究要旨：ステロイド治療が奏効し、プレドニゾロン 2.5～5mg/日まで減量し、6ヶ月以上ALT正常が持続したAIH21例（男性2例、女性19例）を対象にステロイドの中断（2.5mg/日の症例）あるいは減量（5mg/日の症例で2.5mg/日に減量）を試みるケースシリーズ研究を行った。ステロイド中断例12例中7例（58%）で再燃がなく、ステロイド減量例9例中1例（11%）で再燃がなかった。全体として、21例中8例（38%、95%信頼区間17～59%）で再燃がなかった。再燃例と非再燃例の診断時検査成績を比較すると、非再燃例は病悩期間が短く（ $P=0.0642$ ）、T-Bil値が高く（ $P=0.2046$ ）、AST（ $P=0.1195$ ）、ALT（ $P=0.0389$ ）値が高く、IgG値が低く（ $P=0.1376$ ）、AIHスコアが低かった（ $P=0.0083$ ）。したがって、再燃例は慢性肝炎型発症、非再燃例は急性肝炎型発症例が多かった。再燃例の再燃時期は中断後平均 3.2 ± 2.5 ヶ月であり、プレドニゾロン5から30mg/日、平均10mg/日で再正常化に成功した。多変量解析の結果、AIHスコアと病悩期間によって感度92%、特異度88%で再燃を予知することが可能であった。

共同研究者

柴田 実 NTT東日本関東病院消化器内科

A. 研究目的

自己免疫性肝炎autoimmune hepatitis（以下AIH）は慢性の疾患であるが、ステロイドが奏効し、ステロイド減量後少量を投与続けることで正常の肝機能を維持できる症例が多い。ステロイドの長期投与による骨粗鬆症、糖尿病、などの風作用の出現を考えると、中断が可能な例では、中断すべきである。しかし、中断後の再燃は避ける必要がある。欧米の報告では、治療を中断すると半年以内に50%で、3年以内に70～86%で再燃が認められる^{1,2,3}。平成14年度の報告で、わが国にAIH症例でもステロイド減量・中断後再燃を起こさない症例の特徴について述べた。

本研究では、さらに症例数を増やし、中断後のアウトカムを規定している因子と、再燃後の治療成績について報告する。

B. 研究方法

1) 対象および研究デザイン

対象はステロイド治療が奏効し、プレドニゾロン（PSL）2.5～5mg/日まで減量し、6ヶ月以上ALT正常が持続したAIH21例（男性2例、女性19例）である。年齢は平均 54.0 ± 14.8 歳（22～76歳）。

研究デザインはケース・シリーズ研究である。

2) 方法

PSL 2.5mg/日の4例ではPSL中断：14例 PSL 5mg/日の9例ではPSL 2.5mg/日に減量し、2週毎にT-Bil, AST, ALTを測定した。

アミノトランスフェラーゼが正常値上限の2倍以上の上昇を再燃と定義した。

再燃例はPSL 5mg/日に増量し、ALT正常化すればPSL 5mg/日で維持した。ALTの改善がなければ、2週毎PSLを5mgずつ増量し、正常化するまで増量した。

ステロイド中断・減量後の経過観察期間は現時点で全例1年以上である。

名義変数の比較は χ^2 乗検定、連続変数の比較はWilcoxon rank-sum testで行った。多変量解析は多重ロジスティック回帰分析を用い、P値が0.1以下の説明変数を採用して、モデルを作成した。

C. 結果

ステロイド中断例12例中7例（58%、95%信頼区間30～86%）で再燃がなかった。ステロイド減量例9例中1例（11%、95%信頼区間0～32%）で再燃がなかった。全体として、21例中8例（38%、95%信頼区間17～59%）で再燃がなかった（表1）。

表1.ステロイド中断・減量例と再燃の有無

	再燃あり	再燃なし	合計
全体	13例 (62%)	8例 (38%)	21例
PSL 中断群	5例 (42%)	7例 (58%)	12例
PSL 減量群	8例 (89%)	1例 (11%)	9例

再燃例と非再燃例の診断時検査成績を比較すると、非再燃例は病悩期間が短く（ $P=0.0642$ ）、T-Bil値が高く（ $P=0.2046$ ）、AST（ $P=0.1195$ ）、ALT（ $P=0.0389$ ）値が高く、IgG値が低く（ $P=0.1376$ ）、AIHスコアが低かった（ $P=0.0083$ ）。（表2）。したがって、再燃例は慢性肝炎型発症、非再燃例は急性肝炎型発症例が多かった。

多変量解析の結果、病悩期間と診断時AIHスコアにより、多変量モデルを作成することが可能であった（決定係数=0.588）（図1）。このモデルを、解析対象症例に適用すると、感度92%、特異度88%で再燃の予測が可能であった。

再燃例13例は再燃時期が中断後平均3.2±2.5日であり、中断直前ALT値は20±8 IU/L、再燃時ALT値は164±171 IU/Lであった。再治療の奏効率は100%で、PSL投与量：10±7mg/日であった。

表2. 再燃例と非再燃例の比較

	再燃例	非再燃例	P
年齢 (歳)	59±11	46±18	0.0818
性 m:f	1:12	2:6	0.271
病悩期間 (年)	5.8±5.2	2.0±1.5	0.0642
診断時成績			
T-Bil (mg/dL)	3.6±4.2	6.3±7.2	0.2046
AST (IU/L)	543±508	766±372	0.1195
ALT (IU/L)	511±454	1,028±478	0.0389
IgG (mg/dL)	2,989±1,191	2,291±817	0.1376
ANA +ve	12 (92%)	7 (88%)	0.7155
AIH スコア	19.2±2.5	16.1±1.7	0.0083

D. 考察

本研究から、AIHでプロドニゾロン一日量5mgまたは2.5mgまで減量可能で、これらの用量で血清アミノトランスフェラーゼが正常値を維持できる症例では、ステロイド中断・減量後すくなくとも1年間は再燃のない症例が38%あることが示された。さらに、非再燃例は、診断時の血清アミノトランスフェラーゼ値、血清総ビリルビン値がより高値で、血清IgG値が低く、病悩期間が短く、AIHスコアが高かった。多重ロジスティック回帰分析による多変量解析の結果、AIHスコアと病悩期間が独立した予知因子として選択された。これら2つの因子で、多変量モデルを解析対象症例にあてはめると、感度92%、特異度82%で再燃の予測が可能であった。

再燃例では、再燃後プレドニゾロンを一日治療5mgあるいは30mgまで増量することにより、すみやかに正常化が可能であった。

AIH score	1.156	P=0.0728
病悩期間 (年)	0.932	P=0.0802
切片	-22.408	P=0.0704
決定係数	0.588	

1

$$\text{再燃の起きない確率} = \frac{1}{1 + \text{Exp} [-22.408 + 1.156 \cdot \text{AIH score} + 0.932 \cdot \text{病悩期間}]}$$

図1 多変量モデルによるステロイド中断・減量後の再発の予測。

AIH症例の大部分はコルチコステロイド、あるいはアザチオプリンに反応し、肝機能の大幅な改善が得られる^{4,5,6}。わが国のAIH症例でもコルチコステロイドは90%の症例で有効である⁷。肝硬変を伴うAIHの10年生存率は89%、肝硬変を伴わないAIHのそれは90%であることが報告されている⁸。また、中央値62歳のAIH患者を対象とした研究では、5年生存率が64%と報告されている⁹。わが国でも、3年生存率が90%という報告がある¹⁰。

したがって、AIHの予後は良好といえるが、今後QOLの改善、さらに副作用の低減のために、ステロイド中断後再燃を起こさない症例を選別することは重要である。今後、さらに多数例を対象にした研究で、より精度の高い予測が可能なモデルを作成することが必要である。

E. 結論

1. PSL中断/減量後に62%で再燃を認めた。
2. 再燃率は中断群が42%、減量群が89%であった。
3. 再燃例は慢性肝炎型発症、非再燃例は急性肝炎型

発症例が多かった。

4. 再燃例は、病悩期間が長く、診断時AIHスコアが高かった。
5. 再燃は中断/減量から平均3.2ヶ月後に認められた。2週毎に採血し、ALTが正常上限の2倍以上に上昇したら直ちに再治療すると、PSL 5-30mg/日で治療が可能であった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし。
2. 学会発表
なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

文献

- ¹ Czaja AJ. Treatment of autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis.* 2002;22:365-78.
- ² Heneghan MA, McFarlane IG: Current and novel immunosuppressive therapy for autoimmune hepatitis. *Hepatology.* 2002;35:7-13.
- ³ Czaja AJ, Menon KV, and Carpenter HA: Sustained remission after corticosteroid therapy for type 1 autoimmune hepatitis: a retrospective analysis. *Hepatology.* 2002;35:890-7.
- ⁴ Johnson PJ, McFarlane IG. Meeting report: International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology* 1993; 18: 998-1005
- ⁵ Kaplan EL and Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457-481.
- ⁴ Krawitt EL: Autoimmune hepatitis [see comments]. *N Engl J Med* 1996; 334:897-903.
- ⁵ Czaja AJ: Drug therapy in the management of type 1 autoimmune hepatitis. *Drugs* 1999; 57:49-68.
- ⁶ Johnson PJ, McFarlane IG and Williams R: Azathioprine for long-term maintenance of remission in autoimmune hepatitis [see comments]. *N Engl J Med* 1995; 333:958-63.
- ⁷ Toda G, Zeniya M, Watanabe F, Imawari M, Kiyosawa K, Nishioka M, Tsuji T and Omata M: Present status of autoimmune hepatitis in Japan—correlating the characteristics with international criteria in an area with a high rate of HCV infection. *Japanese National Study Group of Autoimmune Hepatitis. J Hepatol* 1997; 26:1207-¹²
- ⁸ Roberts SK, Therneau TM and Czaja AJ: Prognosis of histological cirrhosis in type 1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1996; 110:848-57.
- ⁸ Roberts SK, Therneau TM and Czaja AJ: Prognosis of histological cirrhosis in type 1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1996; 110:848-57.
- ⁹ Parker DR and Kingham JG: Type I autoimmune hepatitis is primarily a disease of later life. *Qjm* 1997; 90:289-96.
- ⁹ Parker DR and Kingham JG: Type I autoimmune hepatitis is primarily a disease of later life. *Qjm* 1997; 90:289-96.
- ¹⁰ Omagari K, Kinoshita H, Kato Y, Nakata K, Kanematsu T, Kusumoto Y, Mori I, Furukawa R, Tanioka H, Tajima H, Koga M, Yano M and Kohno S: Clinical features of 89 patients with autoimmune hepatitis in Nagasaki Prefecture, Japan. *J Gastroenterol* 1999; 34:221-6.
- ¹⁰ Omagari K, Kinoshita H, Kato Y, Nakata K, Kanematsu T, Kusumoto Y, Mori I, Furukawa R, Tanioka H, Tajima H, Koga M, Yano M and Kohno S: Clinical features of 89 patients with autoimmune hepatitis in Nagasaki Prefecture, Japan. *J Gastroenterol* 1999; 34:221-6.
- ⁹ Nikias GA, Batts KP and Czaja AJ: The nature and prognostic implications of autoimmune hepatitis with an acute presentation. *J Hepatol* 1994; 21:866-71.
- ¹⁰ Krawitt EL: Autoimmune hepatitis [see comments]. *N Engl J Med* 1996; 334:897-903.
- ¹¹ Czaja AJ: Drug therapy in the management of type 1 autoimmune hepatitis. *Drugs* 1999; 57:49-68.
- ¹² Johnson PJ, McFarlane IG and Williams R: Azathioprine for long-term maintenance of remission in autoimmune hepatitis [see comments]. *N Engl J Med* 1995; 333:958-63.
- ¹³ Toda G, Zeniya M, Watanabe F, Imawari M, Kiyosawa K, Nishioka M, Tsuji T and Omata M: Present status of autoimmune hepatitis in Japan—correlating the characteristics with international criteria in an area with a high rate of HCV infection. *Japanese National Study Group of Autoimmune Hepatitis. J Hepatol* 1997; 26:1207-12.

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

非定型自己免疫性肝炎に対するウルソデオキシコール酸治療

研究協力者 西口 修平 大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵病態内科 助教授

研究要旨：非定型自己免疫性肝炎4症例（自己免疫性肝炎の国際診断基準において疑診例）を対象としてウルソデオキシコール酸(UCDA)の投与を行い、治療効果を評価した。UCDA投与後1例では肝機能の悪化を認めステロイド治療に変更した。残る3例では肝機能の改善を認めその内2症例では治療前後において肝生検を行い組織学的にも治療効果を評価した。病理組織像の改善は1例のみで明らかであった。AIHの治療としてUCDA投与も選択肢と成り得る可能性が示唆され、今後どの様な病態のAIHがUCDA投与対象であるのかを検討する必要がある。

共同研究者

田守昭博 大阪市立大学肝胆膵病態内科 助手
伊倉義弘 大阪市立大学病理病態学 講師
塩見 進 大阪市立大学核医学 教授

A. 研究目的

ステロイド投与は自己免疫性肝炎(AIH)に対する最も有効な治療であるが、長期投与により骨粗鬆症等の重大な副作用を惹起する。一方、原発性胆汁性肝硬変(PBC)に対して使用されるウルソデオキシコール酸(UCDA)は大きな副作用もなく長期投与には最適である。そこで今回非定型AIHに対するUCDA投与の有効性を臨床経過と組織像から明らかにするため研究を行った。

B. 研究方法

大阪市立大学付属病院にてAIH国際診断基準において疑診例であった4例(女性3, 男性1, 年齢40~69歳)を対象とした。なお、本4症例は本研究班にて実施された臨床研究「自己免疫性肝炎に対する短期間のUCDA療法に関する二重盲検による無作為化比較試験および長期間のUCDA療法の非比較試験」に登録した症例である。班研究のプロトコールに沿いUCDA(600mg/日)投与を行い、臨床経過を観察した。長期UCDA投与へ移行した3例中2例については治療開始後1年経過した時に再肝生検を実施した。またこの2例では治療前後に血液中サイトカイン(IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α)量を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究の目的、方法、患者の個人情報守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、口頭にて同意を得た。

C. 研究結果

対象例は全例抗核抗体陽性、抗ミトコンドリア抗体(AMA)陰性であり国際診断基準スコアは12~15点であった。治療前の肝生検では2例に胆管病変を認めた。UCDA投与後、1症例ではトランスアミナーゼの上昇を認めステロイド治療に変更した。残る3症例では肝機能の改善を認めた。その後のUCDA長期投

与において2症例ではトランスアミナーゼは正常域に維持されたが1例では変動を認めた。UCDA投与開始1年での肝生検は肝機能改善例と変動例について各々1例実施した。肝機能改善例では門脈域の炎症細胞浸潤や肝細胞壊死は改善していた。また治療前に見られた胆管障害像は消失していた。一方線維化の程度は変化なかった。肝機能変動例では門脈域の炎症像は増悪しかつ胆管障害が明瞭となり肉芽腫病変を認め、PBCとして病理組織像が明らかとなった。再肝生検時に測定した血液中サイトカイン(IL-4, IL-6, IL-8, IL-10)は2例ともUCDA投与前より減少していた。IL-2, TNF- α は測定感度以下のため評価できなかった。

D. 考察

AIHの治療法はステロイド投与であることはその治療効果が診断基準にも入っていることから疑いの余地はない。しかしAIHには確診に至らない症例があり軽症AIHとも考えられる疑診例にもステロイド投与を画一的に行う必要があるものかは検討の余地がある。今回、疑診4例(後日1例はPBCと診断)にUCDA投与を行い1例では効果なくステロイド治療への変更を要した。しかし他症例では肝機能は速やかに正常化しAIHであった2症例はUCDA長期投与にても肝機能の変動はなかった。また治療前後の病理像でも門脈域細胞浸潤や小葉内肝細胞壊死像は改善し血液検査と相関する治療効果であった。しかし線維化の改善は認められず、より長期治療例での組織像の解析が必要と考えられる。今回、検討した症例においてUCDA投与が有効であった2例とステロイド投与が必要であった1例には特徴的な差異を見いだせず、UCDA投与の有効性を予測するマーカー検索が検討課題である。

我々の課題とは異なるがAMA陰性PBCと診断を改正した症例が何故UCDA投与にて肝機能改善が不良で組織像でも悪化を認めたのかは興味がある。

E. 結論

国際診断基準にて疑診と診断されるAIHには臨床経過や再肝生検にてPBCとしての病像が明らかとなることがある。従って疑診例ではAIHとしての診断を確定するのではなく慎重な経過観察と可能であれば肝生検

を再施行することで柔軟に対応する必要があるものと思われる。

軽症AIH（疑診例）の中にはUCDA投与にて血液学的にも組織学的にも改善する症例があることが明らかとなった。今後どのような病像のAIHがUCDA投与が有効であるのかを明らかとすること必要である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

1. 田守昭博、西口修平、関 守一。パネル「自己免疫性肝疾患：非定型例をどうとり扱うのか？」において、自己免疫性肝疾患患者血清のプロテインチップによる解析を発表した。第89回日本消化器病学会総会

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容に関しては特になし。

Ⅲ-3. 原發性胆汁性肝硬變

原発性胆汁性肝硬変全国調査（第24報）

オブザーバー 廣原 淳子 関西医科大学第三内科 助手

研究要旨：本研究の目的は、原発性胆汁性肝硬変（PBC）全国調査登録症例に混在する自己免疫性肝疾患非定型例数を推定し、その病態および予後を明らかにすることにある。第6回—11回調査までの登録症例中2360例を対象として、診断時臨床像・治療・予後について解析した。登録症例全体の72%を占めるG-2（AMA陽性または抗PDH抗体陽性でANA陽性またはSMA陽性）および7%を占めるG-3（AMA陰性かつ抗PDH抗体陰性でANA陽性またはSMA陽性）には各々約13%、16%のAIH-PBC overlap syndromeの一部が含まれていることが推定された。また、G-2のうち γ globまたはIgGが2.0g/dl以上かつALTが正常上限の2倍以上を満たす症例群は他に比較して予後不良であり、治療を含め慎重な経過観察を要する。

共同研究者

仲野 俊成
関西医科大学大学情報センター医療情報部
岡崎 和一
関西医科大学第三内科

A. 研究目的

自己免疫性肝疾患非定型例には、自己免疫性肝炎（AIH）-PBC overlap syndromeやautoimmune cholangitis：AICなど様々な概念が含まれている。本邦における原発性胆汁性肝硬変（PBC）の全国調査は1980年より実施され、我々はその集計・解析を継続して行ってきた。既にこれら登録症例に含まれる自己免疫性肝疾患非定型例群の臨床像については本研究班第21報で報告したが、今回は2001年12月までの登録症例を加え長期予後についても解析した。

B. 方法

1. 研究方法

対象は第6回—11回PBC全国調査（調査期間1990年1月—2001年12月末）における登録症例3752例中、解析可能症例2360例である。いずれも1992年厚生省「難治性の肝疾患」調査研究班により定められたPBCの診断基準を満たす症例である。全症例を自己抗体により以下の4群、G-1：抗ミトコンドリア抗体：AMA陽性または抗PDH抗体陽性で抗核抗体（ANA）陰性かつ抗平滑筋抗体（SMA）陰性、G-2：AMA陽性または抗PDH抗体陽性でANA陽性またはSMA陽性、G-3：AMA陰性かつ抗PDH抗体陰性でANA陽性またはSMA陽性、G-4：AMA、抗PDH抗体、ANA、SMAいずれも陰性、に分類し各群別に診断時臨床像・治療・予後などについて解析した。なお、G-2,3に含まれると考えられる自己免疫性肝疾患非定型例群についての検討では、 γ globまたはIgGが2.0g/dl以上かつALTが正常上限の2倍以上の群をG-2,3Aとし、以外の群をG-2,3Bとして比較検討した。

生存率はKaplan-Meier法を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

2. 個人情報の管理

「疫学研究に関する倫理指針」（文部科学省・厚生労働省告示第2号、平成14年6月17日付け）告示以降の本研究にあたっては同告示を遵守するため、研究グループ外に個人情報管理者を設置することを含めた厳格な個人情報管理システムをあらたに構築し、研究対象とした登録症例の個人情報漏洩等について十分な配慮を行った。

C. 研究結果

1. 各群における検討

1) 症例に占める症例数と割合：（表1）：G-1群：484例（20.5%）、G-2群：1706例（72.3%）、G-3群：158例（6.7%）G-4群：12例（0.5%）である。

2) 診断時臨床検査所見（表2,3）：性別でG-1とG-2,3、ALP値でG-1とG-2,3、G-1,2とG-3、ALP/ALT比でG-1とG-2、T-cho値でG-1とG-3、抗PDH抗体価でG-1とG-2、SMA陽性率でG-2とG-3、自己免疫性疾患合併率でG-1とG-2,3、modified AIH score（Alvertz, F et al, J.Hepatol 1999;31:929より肝組織像項目を除外して算定）でG-1とG-2,3,4、G-2とG-3、G-3とG-4間に各々有意差を認めた。

3) 治療（表4）：各群とも80%以上の症例にウルソデオキシコール酸が投与されており、G-3で副腎皮質ステロイドの使用が他群に比較して多い傾向にあった（10.1%）。また、食道胃静脈瘤治療および肝移植については各群に差は認められなかった。

4) 予後（表5、図1）：

死亡数および肝移植例数は表5に示す如くであり、各群間の生存率に有意差は認められなかった（図1）。

2. G-2についての検討

1) G-2 1706例中、 γ globまたはIgGが2.0g/dl以上かつALTが正常上限の2倍以上を満たすG-2Aは212例（12.9%）で、G-2Bは1494例（87.1%）であった。

2) 診断時検査所見（表6）：G-2A、B間で、診断時T-Bil、AST、ALT、ALP、ALP/AST比、T-cho、Alb、 γ glob、AMA力価、modified AIH scoreに有意差を認めた。

3) 予後 (図2): 5年生存率G-2A 88%、G-2B 95%、10年生存率: G-2A 80%、G-2B 88%と、2群間には有意差が認められた。
 3. G-3についての検討
 1) G-3 158例中、 γ globまたはIgGが2.0g/dl以上かつALTが正常上限の2倍以上を満たすG-3Aは25例

(15.8%)で、G-3Bは133例(84.2%)であった。
 2) 診断時検査所見 (表7): 診断時のAST、ALT、ALP、ALP/AST比、T-cho、 γ glob、modified AIH scoreで、G-3A,B間に有意差を認めた。
 3) 予後: 2群間には有意差が認められなかった。

表1 対象症例の内訳

	抗ミトコンドリア抗体(AMA)* 抗PDH抗体**	抗核抗体(ANA)* 抗平滑筋抗体(SMA)*	N (%)
Group 1	AMA(+) or 抗PDH抗体(+)	ANA(-) and SMA(-)	484 (20.5)
Group 2	AMA(+) or 抗PDH抗体(+)	ANA(+) or SMA(+)	1706 (72.3)
Group 3	AMA(-) and 抗PDH抗体(-)	ANA(+) or SMA(+)	158 (6.7)
Group 4	AMA(-) and 抗PDH抗体(-)	ANA(-) and SMA(-)	12 (0.5)
			2360 (100)

*: 間接蛍光抗体法, **: ELISA法

表2 各群別診断時検査

	G-1 (N=484) AMA(+)/PDH(+) ANA(-)/SMA(-)	G-2 (N=1706) AMA(+)/PDH(+) ANA(+)/SMA(+)	G-3 (N=158) AMA(-)/PDH(-) ANA(+)/SMA(+)	G-4 (N=12) AMA(-)/PDH(-) ANA(-)/SMA(-)
年齢 (yr)	54.57±11.00	56.30±11.39	56.03±10.21	52.17±8.98
性別 (F:%)	84.5	89.2*	92.4**	75.0
T-Bil. (mg/dl)	1.07±1.78	1.19±1.99	1.07±1.86	0.83±0.28
AST (U/l)	66.25±69.99	70.90±79.29	72.63±59.24	59.83±34.46
ALT (U/l)	71.48±95.45	70.35±79.29	79.38±75.92	68.08±55.81
ALP (KA U/l)	23.22±17.20	25.43±19.42*	29.64±22.63**	27.32±21.63
ALP/ALT比	1.40±1.39	1.53±1.13*	1.56±1.14	1.99±2.65
Tcho (mg/dl)	212.8±60.7	215.9±80.1	229.6±71.1**	206.8±28.5
Alb (g/dl)	3.99±0.53	3.97±0.54	4.02±0.47	4.14±0.26
γ glob (g/dl)	1.85±0.69	1.85±0.72	1.80±0.65	1.61±0.36
γ glob/正常上限	1.09±0.41	1.09±0.42	1.06±0.38	0.95±0.21

*: significantly difference between G-1 and G-2 (p<0.05),

** : G-1 and G-3, ***: G-2 and G-3

表3 各群別診断時検査

	G-1 (N=484) AMA(+)/PDH(+) ANA(-)/SMA(-)	G-2 (N=1706) AMA(+)/PDH(+) ANA(+)/SMA(+)	G-3 (N=168) AMA(-)/PDH(-) ANA(+)/SMA(+)	G-4 (N=12) AMA(-)/PDH(-) ANA(-)/SMA(-)
AMA(+:%)	98.55	97.37	-	-
(力価:倍)	336.2±482.7	301.1±570.6	-	-
抗PDH抗体(+:%)	82.99	77.40	-	-
(力価:倍)	716.6±1181.8	499.8±1000.6*	-	-
ANA(+:%)	-	98.59	97.42	-
(力価:倍)	-	1121.7±2455.4	1245.8±2206.5	-
SMA(+:%)	-	13.59	24.07***	-
(力価:倍)	-	630.5±2702.7	278.5±344.2	-
自己免疫性疾患合併(%)	15.0	26.7*	33.3**	16.7
組織学的所見 (Scheuer I:II:III:IV)	203:142:53:21	632:410:179:71	63:57:20:9	2:5:2:0
Mod. AIH score*	5.43±2.33	7.67±2.73*	12.32±2.58***	8.83±2.82****

*: significantly difference between G-1 and G-2 (p<0.05),

** : G-1 and G-3, ***: G-2 and G-3,

****: G-1 and G-4, *****: G-3 and G-4.

*: Avertz F et al.: J. Hepatol 1999;31:929より

肝組織像項目を除外して算定

表4 各群における治療

	G-1 N=484	G-2 N=1706	G-3 N=158	G-4 N=12
UDCA	431(89.0)	1508(88.4)	138(87.3)	10(83.3)
コルヒチン	25(5.2)	60(3.5)	8(5.1)	2(16.7)
副腎皮質ステロイド	12(2.5)	65(3.8)	16(10.1)	0(0)
アザチオプリン	5(1.0)	2(0.1)	3(1.9)	0(0)
コレステラミン	2(0.4)	8(0.4)	0(0)	0(0)
ベザフィブラート	11(2.2)	40(2.3)	12(7.6)	0(0)
静脈瘤治療	3(0.6)	16(1.0)	2(1.3)	0(0)
肝移植	2(0.4)	8(0.5)	2(1.3)	0(0)

():%

表5 予 後

	G-1 N=484	G-2 N=1706	G-3 N=158	G-4 N=12
生存	445	1566	152	12
死亡	39	123	4	0
肝不全	20	73		
消化管出血	1	5		
静脈瘤破裂	4	7		
肝不全+		1		
消化管出血				
その他	12	37	4	
肝移植	2	8	2	

表6 診断時検査項目 (Group 2)

	Group-2A (n=212)	Group-2B (n=1494)	p
年齢(yr)	54.25±12.51	56.59±11.20	0.005
性別(F;%)	89.62	89.09	0.815
T-Bil.(mg/dl)	1.86±2.96	1.09±1.78	<0.001
AST (U/l)	124.9±92.94	63.17±74.04	<0.001
ALT (U/l)	122.1±83.63	61.36±71.71	<0.001
ALP (KA U/l)	37.4±24.64	23.74±17.94	<0.001
ALP/ALT比	1.13±0.81	1.58±1.16	<0.001
T-cho (mg/dl)	229.15±106.39	213.91±75.39	<0.01
Alb (g/dl)	3.80±0.53	3.99±0.54	<0.001
γ glob (g/dl)	2.68±0.70	1.70±0.60	<0.001
AMA(力価)	541.2±1000.09	266.03±471.26	<0.001
抗PDH抗体(力価)	539.4±828.58	405.65±951.82	0.279
ANA(力価)	1256.4±3782.65	1100.60±2210.93	0.427
ASMA(力価)	237.4±535.92	407.02±2285.95	0.724
自己免疫疾患合併(%)	23.1	27.2	0.209
組織学的所見	58:45:42:19	574:365:137:52	0.301
Mod. AIH score	9.04±2.72	7.47±2.67	<0.001

表7 診断時検査項目 (Group 3)

	Group-3A (n=25)	Group-3B (n=133)	p
年齢(yr)	54.00±11.15	56.41±10.07	0.281
性別(F;%)	88.0	93.2	0.368
T-Bil.(mg/dl)	1.18±0.84	1.04±2.01	0.757
AST (U/l)	130.08±77.91	61.75±48.42	<0.001
ALT (U/l)	130.32±89.86	69.73±69.57	<0.001
ALP (KA U/l)	47.21±32.59	26.18±18.49	<0.001
ALP/ALT比	1.36±1.06	1.59±1.16	<0.001
T-cho (mg/dl)	266.12±97.55	222.27±62.46	<0.005
Alb (g/dl)	3.86±0.46	4.05±0.46	0.057
γ glob (g/dl)	2.60±0.64	1.61±0.49	<0.001
ANA(力価)	640±746.82	1368.02±2387.86	0.142
ASMA(力価)	273.3±114.31	206.52±359.85	0.660
自己免疫疾患合併(%)	40.0	32.1	0.443
組織学的所見	9:8:3:2	54:49:17:7	0.002
Mod. AIH score	13.72±2.17	12.05±2.58	0.003

図1 各群の生存率

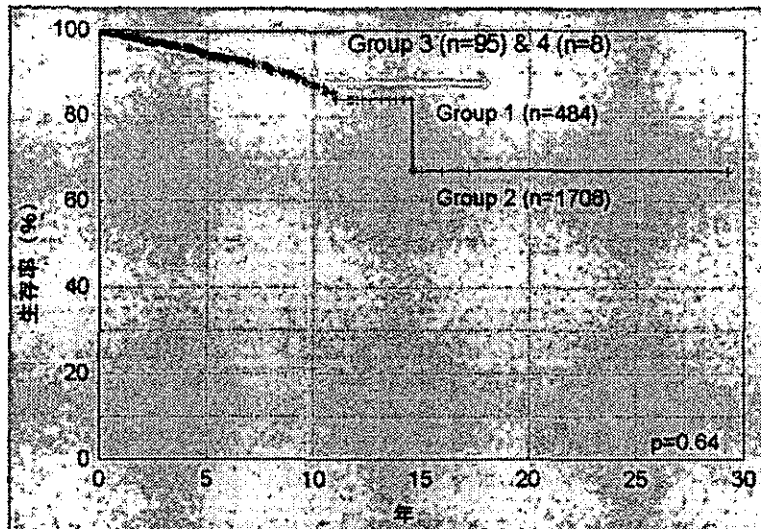


図2 生存率 (Group 2)

