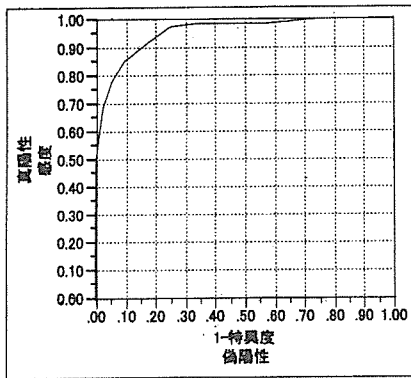


図3：病理所見を除く臨床所見のみによるIAHGスコアのROC曲線

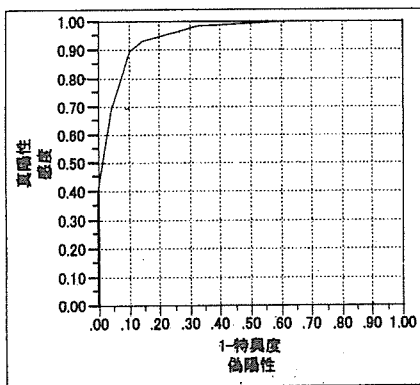


AUCは0.9563 (95%CI 0.9235~0.9891)

3因子多変量モデルの診断能

ROC AUCは0.9550 (95%CI 0.9217~0.9883) となった。7因子モデルと比べ、AUCはより小さな値となった(図4)。

図4：3因子多変量モデルのROC曲線

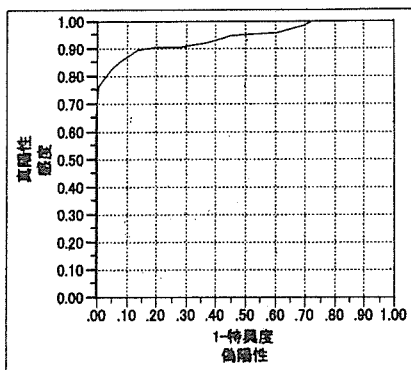


AUCは0.9550 (95%CI 0.9217~0.9883)

治療開始前病理所見を含むIAHGスコアの診断能

この場合には、スコアの算定に治療に対する応答は加味されていないが、肝生検の所見は含まれている。ROC AUCは0.9414 (95%CI 0.9036~0.9792) となった(図5)。

図5：治療開始前病理所見を含むIAHGスコアの診断能

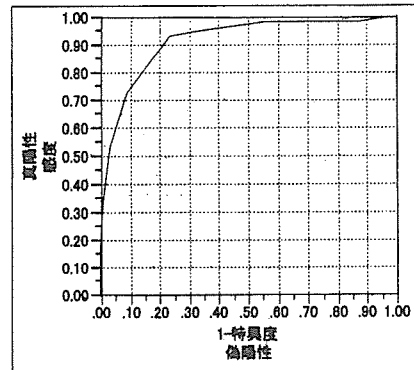


ROC AUCは0.9414 (95%CI 0.9036~0.9792)

治療開始前病理所見を除くIAHGスコアの診断能

ROC AUCは0.9182 (95%CI 0.8738~0.9625) となった。治療開始前病理所見を含むIAHGスコアと比べ、AUCはより小さな値となった(図6)。

図6：治療開始前病理所見を除くIAHGスコアの診断能

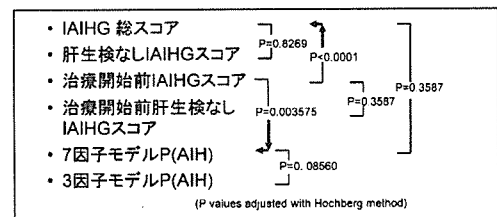


ROC AUCは0.9182 (95%CI 0.8738~0.9625) となった。

各診断システムにおけるAUCの統計学的比較検定

それぞれのAUCを6つの組み合わせで比較した。図7に示すように、IAIHG総スコアと治療前IAIHGスコアのAUC間には有意差が認められた(P<0.0001)。すなわち、IAIHGスコアシステムは治療応答の項目を加味しないと診断能が低下することがわかった。それに対して、治療開始前IAIHGスコアと治療開始前病理所見を含まないIAIHGスコアのAUCの間には有意差が無かった。すなわち、治療応答性が未知の時点で、肝生検を行っても、診断能は向上しないと考えられた。

図7：各診断システムにおけるAUCの統計学的比較検定の結果



また、治療前IAIHGスコアと7因子多変量モデルのAUCの間には、有意差が認められた(P=0.003575)。すなわち、治療前に肝生検が行われ、病理組織所見が既知の時点では、IAIHGスコアよりも7因子多変量モデルのほうが、診断能が有意に高い。

7因子多変量モデルと3因子多変量モデルの比較では、P=0.0856となり、実際には差があるが、サンプルサイズが小さいためその差を検出できなかったと考えるのが妥当と思われた。

それ以外の比較では、有意差の認められたものは無かった。すなわち、治療応答性を含めたIAIHG総スコアと7因子多変量モデルのAUCには差が無かった(P=0.3587)。

D. 考 察

連続変数あるいは順序変数によって、疾患の有無を判定する場合には、ROC解析により、その診断能を解析することができる。本研究では、自己免疫性肝炎の診断に広く用いられているIAIHGのスコアと本研究班で開発した多変量ロジスティックモデルによる疾患確率による診断能を解析した。その結果、治療開始前の時点における診断では、肝生検所見も含めた7因子ロジスティックモデルの診断能がIAIHGスコアシステムより優れていることが証明された。すなわち、コルチコステロイドあるいはアザチオプリンなどの免疫抑制剤投与に対する肝機能改善の有無を見る前の時点で、肝生検が行われていれば、7因子ロジスティックモデルの方が、IAIHGスコアシステムより、診断能が優れている。

診断能の解析のためには、診断のゴールドスタンダードが必要となるが、今回は、一致した主治医と肝病理専門医の診断を診断のゴールドスタンダードとし、自己免疫性肝炎およびそれ以外の肝疾患のプロトタイプとして解析した。自己免疫性肝炎以外の疾患として含まれたのは、PBCが主で、一部PSC、Overlap症候群が含まれていた。したがって、慢性ウイルス肝炎などは含まれていない。疾患スペクトラムとしては、ウイルス肝炎、薬剤性肝障害、脂肪肝、アルコール性肝障害、腫瘍性肝疾患、代謝疾患、胆石、寄生虫疾患が除外された肝疾患が対象であるが、これは実際の臨床に近い状態と考えられる。

今回の解析対象は、ウイルス肝炎、薬剤性肝障害、アルコール性肝障害は除外されているので、IAIHGの診断項目の内、これらの項目のスコアは全例がそれぞれ+3, +1, +2のスコアが加算されている。

IAIHGスコアシステムは国際的に自己免疫性肝炎の症例を共通の基準で取り扱えるようにすることが目的で開発されたものであるが、実際、自己免疫性肝炎の診断において有用であり、臨床の場でも広く用いられている。

E. 結 論

1. ROC解析により、ウイルス性、腫瘍性、アルコール性、薬剤性、代謝性、寄生虫性肝疾患、胆道系疾患、脂肪肝を除外後の肝疾患を対象とした自己免疫性肝炎の診断において、IAIHGスコアシステムと7因子ロジスティックモデルは同等の診断能を有することが示された。
2. 治療開始前の時点における診断では、肝生検所見も含めた7因子ロジスティックモデルの診断能はIAIHGスコアシステムより優れていた。

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（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

(参考文献)

- 1) Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, Chapman RW, Cooksley WG, Czaja AJ, Desmet VJ, Donaldson PT, Eddleston AL, Fainboim L, Heathcote J, Homberg JC, Hoofnagle JH, Kakumu S, Krawitt EL, Mackay IR, MacSween RN, Maddrey WC, Manns MP, McFarlane IG, Meyer zum Buschenfelde KH, Zeniya M, et al.: International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929-938. ID: 10580593
- 2) Omagari K, Masuda J, Kato Y, Nakata K, Kanematsu T, Kusumoto Y, Mori I, Furukawa R, Tanioka H, Tajima H, Koga M, Yano M, Kohno S: Re-analysis of clinical features of 89 patients with autoimmune hepatitis using the revised scoring system proposed by the International Autoimmune Hepatitis Group. *Intern Med* 2000; 39: 1008-1012. ID: 11197782
- 3) McFarlane IG: Autoimmune hepatitis: Clinical manifestations and diagnostic criteria. *Can J Gastroenterol* 2001; 15: 107-113. ID: 11240380
- 4) Talwalkar JA, Keach JC, Angulo P, Lindor KD: Overlap of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis: an evaluation of a modified scoring system. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1191-1197. ID: 12014727
- 5) Zeniya M, Watanabe F, Morizane T, Shibata M, Maeyama S, Kage M, Nakanuma Y, Toda G: Diagnosing clinical subsets of autoimmune liver diseases based on a multivariable model. *J Gastroenterol* 2005; 40: 1148-1154. ID: 16378179
- 6) 森實敏夫: 入門医療統計学. 2004年, 東京図書.
- 7) Hanley JA and McNeil BJ: A method of comparing the area under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology* 1983; 148: 839-843.
- 8) Benjamini Y, Hochberg Y: Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc B* 1995; 57: 289-300.

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

自己免疫性肝疾患の病態とABCトランスポーターの関連

研究協力者 銭谷 幹男 東京慈恵会医科大学 消化器・肝臓内科 教授

研究要旨：自己免疫性肝炎（AIH）では健常人に比しCD4，CD8細胞におけるABCトランスポーターのP糖タンパク質（Pgp）の発現率が有意に高かったが，機能に差は認めなかった。また，ステロイド治療抵抗群，ステロイド治療中の再燃歴を有する群では，非抵抗群，再燃歴を有さない群に比しPgpの発現率が有意に高値だったが，機能に差は認めなかった。以上より，T細胞におけるPgp発現がステロイド治療抵抗性，治療中の再燃に関連する新たな指標となる可能性が示された。

共同研究者

高橋 宏樹 東京慈恵会医科大学
消化器・肝臓内科 講師

A. 研究目的

自己免疫性肝炎（AIH）の治療においては，ステロイド抵抗性，減量中および維持量投与中に生ずる再燃が大きな臨床的問題であるが，ステロイド抵抗性が生ずる機序や再燃を予測する因子は明らかにされていない。近年，抗癌剤の薬剤抵抗性に寄与するABCトランスポーターであるP糖タンパク質（Pgp）が，細胞内ステロイドの細胞外排出機能を持つことが示された。そこでAIH症例のT細胞におけるPgp発現と機能を解析し，ステロイド抵抗性・再燃との関連を検討した。

B. 研究方法

臨床病理学的にAIHと診断された36例，健常人30例を対象とした。末梢血単核球からMACSを用いて分離したCD4，CD8陽性細胞におけるPgp発現を，抗Pgpモノクローナル抗体（MRK-16）を用いFACSにより解析した。Pgp機能は，CD4，CD8細胞を30分間rhodamine123（0.4mM）添加培養し，洗浄後にPgp阻害剤PSC833（0.1μM，Novartisより供与）存在・非存在下で50分間培養，その後PEラベルCD4，CD8抗体を用いたFACS解析により細胞内rhodamine123残存量を定量し，Pgpによる細胞内rhodamine排泄率を測定して評価した。統計学的検討はCochran-cox検定により行った。

C. 研究結果

CD4，CD8細胞におけるPgp発現率は，いずれも健常群に比しAIH群で有意に高値だった（CD4：3.7 vs 15.1%， $P < 0.001$ ，CD8：3.4 vs 16.0%， $P < 0.001$ ）。AIH群ではCD4，CD8細胞のPgp発現率間に有意の正の相関がみられたが（ $r = 0.68$ ， $P < 0.001$ ），Pgp発現率と血清AST，ALT，IgG値間に有意な相関はなかった。Pgp機能はCD4，CD8細胞いずれにおいてもAIH群と健常群間で有意差はなく，AIH群ではCD4，CD8細胞のPgp機能と血清AST，ALT，IgG値間に有意な相関を認めなかった。AIH症例をステロ

イド治療抵抗性（PSL10mg/日以下に減量不能）の有無，治療中の再燃歴の有無で分けると，治療抵抗群では非抵抗群に比しCD4細胞のPgp発現率が有意に高値で（18.4 vs 10.8%， $P < 0.05$ ），再燃歴有群では無群に比しCD4，CD8細胞のPgp発現率がいずれも有意に高値だった（CD4：20.8 vs 11.4%， $P < 0.05$ ，CD8：19.5 vs 11.9%， $P < 0.05$ ）。しかし，Pgpの発現密度（MFI），機能は，治療抵抗群・非抵抗群間，再燃歴有群・無群間で有意差はなかった。また，治療開始時から経時的に検討し得た症例では，ステロイド治療によるPgp発現，機能の経時変化は認めなかった。

D. 考察

今回の検討により，AIHの末梢血T細胞では，細胞内のステロイドを細胞外に排出する機能を有するPgpの発現率が健常人に比し有意に高いことが示された。Pgpの発現は種々の炎症性サイトカインや薬剤により誘導されることが報告されており，AIHでのPgp発現率増加はそうした機序による可能性がある。しかし，血清AST，ALT，IgG値とPgp発現率の有意な相関は認められず，Pgp発現率は疾患活動性を反映する指標とはなり得ないことが明らかになった。

興味深いのは，末梢血T細胞におけるPgp発現率がステロイド治療に抵抗性を示す群，治療中の再燃歴を有する群で有意に高値を示したことである。しかし，細胞1個あたりのPgp発現量および機能には差が認められず，またステロイド治療中のPgp発現率，機能の経時変化も認めなかったことから，ステロイド治療に抵抗性を示す機序，治療中に再燃する機序をPgpの発現や機能の動態で説明するのは困難と思われる。

むしろAIH症例のT細胞のPgp発現率は病勢や治療による影響をあまり受けず，それゆえにステロイド抵抗性や再燃に関与する新たな指標としての有用性がある可能性がある。

今後の課題としては，さまざまな臨床経過を示すAIH症例のPgp発現率，機能の経時変化の解析を積み重ね，検証していくことが必要と考える。

E. 結論

T細胞のPgp発現率は健常人に比しAIHで有意に高

く、ステロイド抵抗例、再燃歴を有する群では有さない群に比し有意に高値だったことから、T細胞におけるPgp発現がステロイド抵抗性・再燃に関与する新たな指標となる可能性が示された。

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
平成18年度・日本肝臓学会総会にて発表予定

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 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TPMT遺伝子多型の臨床的意義

研究協力者 西口 修平 兵庫医科大学 内科学肝胆膵科 教授

研究要旨：日本では自己免疫性肝炎患者（AIH）の9割がステロイド治療に奏功する。しかし治療抵抗例ではアザチオプリン（AZA）をはじめ他の免疫抑制剤の併用が必要となる。AZAは免疫抑制剤として炎症性腸疾患の治療に汎用されるが骨髄抑制などの副作用が臨床で大きな問題である。TPMTはAZA代謝の重要な酵素でありその遺伝子多型と副作用発現との関連が示唆されている。そこで当科でAZA投与したAIH 9例について臨床経過と遺伝子多型を比較検討した。2例でAZAによる骨髄抑制が起こり1例はTPMTホモ多型を有していた。もう1例では野生型のTPMTであった。現在投与継続中の患者3例ではAZA代謝産物である6 TGNの血中濃度は至適範囲に維持されていた。以上よりAZA投与に際してはTPMT遺伝子多型解析と薬剤モニタリングを実施する必要があるものと考えられた。

共同研究者

田守 昭博 大阪市立大学 肝胆膵病態内科 講師

A. 研究目的

アザチオプリンは免疫抑制剤として自己免疫性疾患の治療に使用されている。ステロイド抵抗性の自己免疫性肝炎（AIH）にも投与され臨床効果を認めている。アザチオプリンには消化器症状、骨髄抑制、膵炎、発疹などの副作用発現が懸念される。炎症性腸疾患では副作用の予測としてアザチオプリン代謝の重要な酵素のひとつである thiopurine-S methyltransferase (TPMT) の遺伝子多型解析や薬剤モニタリングが提唱されている。そこで本研究では日本人AIH患者を対象としてTPMT遺伝子多型を解析し、アザチオプリンによる副作用発現予測の可能性について検討した。またアザチオプリンの薬物モニタリングと臨床効果についても検討した。

B. 研究方法

大阪市立大学医学部附属病院にて診断加療されたAIH患者49例（国際診断基準において診断）、組織学的に確定診断された原発性胆汁性肝硬変（PBC）67例、およびコントロールとしてC型慢性肝炎患者120例を対象とした。TPMT遺伝子多型の解析は既報に従ってアレル特異的PCRおよびPCR-RFLP法により実施した。遺伝子多型は各アレルの塩基配列によって野生型TPMT*1と変異型（TPMT*2, TPMT*3A, TPMT*3B, TPMT3C）に分類して表示した。アザチオプリン投与した9症例についてその副作用（骨髄抑制、消化器症状等）と遺伝子多型との関連を比較した。さらに現在アザチオプリン投与中の3症例についてはその血中濃度を測定し、アザチオプリンモニタリングの臨床応用について検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は大阪市立大学大学院医学研究科倫理委員会の承認を得て実施した。対象となった人へは本研究の目的、方法、個人情報の守秘義務、個人の権利保護等

について十分な説明を行い、文書にて同意を得た。

C. 研究結果

AIH49症例中では野生型（TPMT*1/TPMT*1）44症例、ヘテロ例（TPMT*1/TPMT3C）が4例（8.2%）、ホモ例（TPMT3C/TPMT3C）が1例（2%）。PBC67例では野生型63例、ヘテロ3例（4.3%）、ホモは1例（1.4%）であった。C型慢性肝炎120例では野生型119例、ヘテロ1例（0.8%）であった。アザチオプリン投与症例9例中にて骨髄抑制を起こした2症例では1例がTPMT遺伝子塩基配列の解析、TPMT3Cのホモ変異であることが示された。一方、もう一例では野生型のTPMT遺伝子であった。現在、アザチオプリン投与継続中の患者での血液中6 TGNの濃度は、106~427pmolであり至適濃度にコントロールされていた。

D. 考察

TPMT遺伝子は染色体6 p22.3に存在するが10種類以上の遺伝子多型が存在する。野生型に対してその酵素活性が低下する多型としてはTPMT*2, TPMT*3A, TPMT*3B, TPMT3Cが報告されている。薬理遺伝学の解析では一般日本人におけるTPMT多型は2~3%と報告されている。昨年度から症例数を増加させた検討でもAIH10.2%、PBC5.7%にTPMT遺伝子多型を認めた。特にアザチオプリン投与が行われるAIH症例に頻度が高いことは臨床で特記すべきことと考える。またアザチオプリンの血中モニタリングとして6 TGN測定が可能であり、アザチオプリン投与中のAIH患者における病態把握に有用であることが推測された。

E. 結論

TPMT遺伝子の（TPMT 3 C/TPMT 3 C）多型例ではアザチオプリンによる骨髄抑制が生じた。しかし野生型の遺伝子を持つ患者においても骨髄抑制が起こり、TPMT遺伝子多型のみではアザチオプリンの副

作用予測は困難であることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Higashiyama S, Shiomi S, Kawamura E, et al : Effect of Alendronate on Bone Loss in Patients with Cirrhosis of the Liver. Jpn Pharmacol Ther 34 : 1209-1214, 2006.

2) Tamori A, Shinzaki M, Kosaka S, et al : Thiopurine S-methyltransferase gene polymorphism in Japanese patients with autoimmune liver diseases. Liver Int. 27 : 95-100, 2007.

2. 学会発表

1) Tamori A, Shinzaki M, Iwai S, et al : Thiopurine S-methyltransferase gene polymorphism in Japanese patients with autoimmune immune hepatitis. The 5th JSH Single Topic Conferance, Nagasaki, 2006.

2) 田守昭博, 河田則文, 西口修平 : ステロイド抵抗性自己免疫性肝疾患の特徴と対策－アザチオプリン代謝酵素多型を含めて－. 第10回日本肝臓学会大会, パネルディスカッション, 札幌, 2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 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免疫寛容破綻機構の解明

研究協力者 日比 紀文 慶應義塾大学医学部 消化器内科 教授

研究要旨：自己免疫性肝炎は、病因、発症機序が不明だが、最近の研究で末梢血単核球のregulatory T cellの機能低下がその一因と報告されている。今回、我々は自己免疫性肝炎と診断された症例の肝生検組織を用いてFoxp3の免疫組織染色を施行、その病態と比較検討した。Foxp3陽性細胞は、炎症細胞浸潤の強い組織に多く認められたが、acute-onset typeの症例でFoxp3陽性細胞数が有意に少なく、自己免疫性肝炎発症にregulatory T cellの機能低下が関与している可能性があると考えられた。

共同研究者

海老沼浩利 慶應義塾大学医学部 消化器内科 助手
多田慎一郎 慶應義塾大学医学部 消化器内科 講師
斎藤 英胤 慶應義塾大学医学部 消化器内科 講師

A. 研究目的

自己免疫性肝炎は、病因、発症機序が不明であり、そのことが診断、および治療法の進歩の妨げになっていると考えられている。最近、自己免疫性肝炎の病因に制御性T細胞（regulatory T cell）の関与が報告されている。しかし、それらの研究の多くは、末梢血単核球を用いたものであり¹⁾⁻³⁾、肝組織中でregulatory T cellがどのように関与しているかは未だ解明されていない。さらに、自己免疫性肝炎患者には、他の自己免疫性疾患を合併することが多いが、それらの増悪とは関連せず、末梢血regulatory T cellの機能低下では説明がつかない。

そこで、我々は自己免疫性肝炎と診断された肝生検組織標本の免疫染色を用いて、肝組織中regulatory T cellの解析を行うことを目的とした。

B. 研究方法

自己免疫性肝炎と診断された25症例の治療前（一部治療後を含む）の肝生検組織標本をanti-CD 4 及びanti-Foxp3（PCH101, eBioscience）の免疫組織染色を施行、1視野あたりの陽性細胞数を計測した。ここで、ウイルス性慢性肝炎患者ではregulatory T cellは増加していることが報告されており⁴⁾⁻⁶⁾、ウイルス性慢性肝炎患者の組織をコントロールにおくことは出来ない。さらに、正常肝ではほとんど炎症細胞浸潤がない。そこで、自己免疫性肝炎の病態（炎症細胞浸潤の程度、血清ALT値、血清IgG値、acute-onsetとchronic typeの発症群別）にわけてこれらの陽性細胞数を比較検討した。

C. 研究結果

自己免疫性肝炎患者の肝組織中には、CD 4 陽性細胞（zone1 : 6.3±11.6, zone3 : 6.1±11.8）、Foxp3 陽性細胞（zone1 : 12.2±13.2, zone3 : 11.0±12.1）はともに正常肝組織と比較して少なかった。

- Foxp3陽性細胞は、炎症細胞浸潤の多いところに有意に多く認められたが、CD 4 陽性細胞数には差が認められなかった。
- CD 4 及びFoxp3陽性細胞数は、血清ALT値、IgG値とは相関しなかったが、Foxp3陽性細胞はacute-onset typeの自己免疫性肝炎症例（7.4±7.2）ではchronic typeの症例（15.2±15.4）に比較して有意に少なかった（ $p<0.05$ ）。
- Corticosteroid治療後では、治療前と比較して、炎症細胞浸潤の改善とともに、Foxp3陽性細胞は減少していた。

D. 考察

Regulatory T cellの低下は、自己組織に対する免疫寛容の破綻を来し、自己免疫性疾患を発症すると考えられている。自己免疫性肝炎においては、末梢血単核球を用いた研究でregulatory T cellの頻度の低下、及びそのFoxp3 mRNAの発現低下が報告されており、その関与が考えられている¹⁾⁻³⁾。しかし、自己免疫性肝炎の病態は、肝臓内で起こっており、末梢血単核球中のregulatory T cellの機能低下が、どれだけ自己免疫性肝炎の病態を反映しているかどうかは分からない。今回、肝生検組織を用いた解析で、肝組織においてもFoxp3陽性細胞数の低下が確認されたが、コントロールを何にするかは今後の課題である。すなわち、ウイルス性慢性肝炎ではregulatory T cellが増加していることが予測されており、また、正常肝組織では炎症性細胞浸潤に乏しく、コントロールになり得ない。さらに、今回CD 4 陽性細胞数に対するFoxp3陽性細胞数の比率を検討してみたが、CD 4 陽性細胞が予想以上に少なく、検討できなかった。このことは、自己免疫性肝炎において、CD 4 細胞の関与が少ないことを示すと同時に、CD 8 陽性のFoxp3細胞の存在を検討する必要があると考えられた。そこで、acute-onset typeとchronic typeの症例にわけて解析したところ、有意にacute-onset typeの症例でFoxp3陽性細胞数が少なかったことから、自己免疫性肝炎発症の段階で特にregulatory T cellの機能低下があると考えられた。

また、Foxp3陽性細胞は、炎症細胞浸潤の強い部分

に多く認められた。このことは、regulatory T cellは炎症の結果発現してきたものとも考えられ、炎症の原因になるのか、炎症の結果出現してくるのか、という根本的な問題点を提議している。この問題点の解決には、さらに各種疾患の異時的な検討と同一症例の経時的検討を進めていく必要がある。

E. 結 論

自己免疫性肝炎においてregulatory T cell数の低下がその発症に関与している可能性が考えられた。

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
 - 1) 多田慎一郎, 斎藤英胤, 日比紀文: ステロイド抵抗性自己免疫性肝炎の検討. 第9回日本肝臓学会大会, パネルディスカッション, 神戸, 2005.
 - 2) Ebinuma H, Tada S, Saito H, et al: Clinical presentation of patients with acute-onset autoimmune hepatitis. The 5th JSH Single Topic Conference, Nagasaki, 2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

(参考文献)

- 1) Longhi MS, et al: Impairment of CD 4 + CD25+Treg in AIH. J Hepatol 2004, 41, 31-37.
- 2) Longhi MS, et al: Effect of CD 4 +CD25+ Treg on CD 8 T cell function in patients with AIH. J Autoimmunity 2005, 25, 63-71.
- 3) Longhi MS, et al: Functional study of CD 4 +CD25+Treg cells in health and AIH. J Immunol 2006, 176, 4484-4491.
- 4) Sugimoto K, et al: Suppression of HCV-specific T cells without differential hierarchy demonstrated ex vivo in persistent HCV infection. 2003, 38, 1437-1448.
- 5) Cabrera R, et al: An immunomodulatory role for CD 4 (+) CD25 (+) regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection. Hepatology 2004, 40, 1062-1071.
- 6) Stoop JN, et al: Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection. Hepatology 2005, 41, 771-778.

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肝浸潤制御性T細胞の検討

分担研究者 井廻 道夫 昭和大学医学部 第二内科 教授

研究要旨：自己免疫性肝炎の発症への制御性T細胞の関与を検討するため、患者の肝組織を制御性T細胞のマーカーであるF_{oxp3}に対する抗体で免疫染色した。原発性胆汁性肝硬変と比較し自己免疫性肝炎では肝浸潤制御性T細胞の頻度が有意に低かった。またC型慢性肝炎とB型慢性肝炎と比較し自己免疫性肝炎では頻度が少ない傾向がみられ、制御性T細胞欠乏状態が自己免疫性肝炎の病態に関与していることが示唆された。

A. 研究目的

CD4+CD25+T細胞は、末梢血中CD4+T細胞の5～10%を占め、自己反応性CD4細胞やCD8細胞の活性を抑制する働きがあり制御性T細胞（Treg）といわれている。自己免疫性肝炎（AIH）患者では健常者と比較し末梢血中のTregが有意に減少しており、AIHの発症にはTregが関与していることが想定されている。近年、ヒトおよびマウスの自己免疫性・炎症性疾患において遺伝的に欠損しているF_{oxp3}遺伝子が、健常個体中に存在するCD4+Tregで特異的に発現していることが報告され、F_{oxp3}は、制御性T細胞の発生においてマスター制御遺伝子であると考えられている。今回の研究は、自己免疫性肝炎における肝組織内の制御性T細胞の動態を検討することである。

B. 研究方法

パラフィン包埋した肝組織〔AIH19例、PBC21例、CH-C27例、CH-B16例、コントロール14例（コントロール以外はALT30以上の症例）〕を抗F_{oxp3}（Mouse anti-F_{oxp3} monoclonal antibody, Abcam社）、抗CD4、抗CD8抗体で免疫組織染色し、それぞれの陽性細胞数を顕微鏡下でカウントし、肝浸潤単核球との割合を算出した。

C. 研究結果

AIH症例はPBC症例より肝浸潤制御性T細胞は有意に少なかった（ 5.197 ± 2.520 VS 7.289 ± 3.536 $p=0.0386$ ）。CH-C、CH-B症例とは有意差はみられないもののAIH症例で少ない傾向がみられた。

CH-B症例では血清ALT値が高値である方がF_{oxp3}+細胞の割合が高い傾向がみられた。

CD4+T細胞浸潤はAIH症例がPBC、CH-C、CH-B症例と比べ少なかった。

CD8+T細胞浸潤はCH-B症例でAIH、PBC、CH-C症例と比べ強い浸潤を認めた。

AIHスコアや病理学的進行度とTregの浸潤とは明らかな相関はみられなかった。

D. 考察

今までの報告では自己免疫肝疾患において制御性T

細胞の肝内動態の検討はいまだ少ない。本研究では自己免疫性肝炎では制御性T細胞は少なく病態に関与していることが考えられたが、原発性胆汁性肝硬変では他の免疫機構が関与している可能性も考えられた。

E. 結論

AIHにおいて肝内浸潤制御性T細胞が少なくAIHの病態に関与している可能性がある。

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

1) Sakaki M, Baba T, Hiraide A, et al : Intrahepatic regulatory T cells in autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis and hepatitis C. The 5th JSH Single Topic Conference, Nagasaki, 2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 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

自己免疫性肝炎患者の制御性T細胞と樹状細胞上のToll-like receptor（TLR）の発現様式の検討

研究協力者 各務 伸一 愛知医科大学 消化器内科 教授

研究要旨：生体内の末梢における免疫寛容状態の維持には、制御性T細胞（Tr）が深く関わっているが、Trがいかんして自己と細菌やウイルスなどの外界から侵入してくる微生物を区別しているのかはわかっていない。最近TrがいくつかのTLR familyを選択的に表出していることが明らかになった。一方、樹状細胞（DC）はCTLやヘルパーT細胞などのエフェクター細胞に抗原提示を行うのと同時にTrに対しても抗原提示を行っており、Trの機能を調節している可能性がある。今回我々は、AIH患者の末梢血中のTrとDCに発現しているTLRについて検討し、健常人・C型慢性肝炎（C-CH）患者との比較を行った。末梢血液中に存在するTrには、わずかにTLR 3, 4, 7, 9が、また比較的多くTLR 6が発現していた。末梢血中に存在しているDC（PDC+MDC）においては、健常者では主としてTLR 3, 4, 6, 7, 9の発現亢進が認められ、とくにTLR 9の発現亢進が著明であったのに対してAIH患者の末梢血中に存在しているDC（Plasmacytoid DC + Myeloid DC）ではTLR 6のみが発現しており、健常者の発現パターンとは大きく異なっていた。このようなTLRの発現形態の差異がDCの活性化や抗原提示機序に変化を引き起こし、さらにはAIHの病態形成にも関連している可能性が示唆された。

共同研究者

奥村 明彦 愛知医科大学 消化器内科 講師
石川 哲也 愛知医科大学 消化器内科 助教授

A. 研究目的

制御性T細胞（Tr）は、自己免疫性疾患における末梢組織での免疫寛容状態の維持において大きな役割を果たしている。一方、樹状細胞（DC）は抗原提示細胞としてエフェクター細胞（Te）のみならずTrも刺激しており、Tr、DC、Teの3者の関係が自己免疫性肝炎の病態に密接に関係していると考えている。最近Tr自身がToll-like receptor（TLR）を発現していることが示され、Foxp3やCTLA-4などの分子と同様にTLRを介した刺激がTrの機能に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられる。またTLRを介したDCの活性化によりTLR依存的に提示する抗原が選択されている可能性が示唆されTrの機能にも大きく影響を及ぼしている可能性が考えられる。今回我々は、AIH患者の末梢血中のTrとDCに発現しているTLRについて検討し、健常人・C型慢性肝炎（C-CH）患者との比較を行った。

B. 研究方法

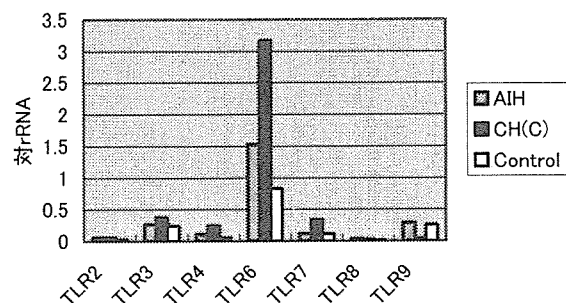
AIH患者12例、C-CH患者15例、健常人10例から得られたPBMCから磁気ビーズ法にてCD14陽性細胞を分離し、in vitroにてGM-CSF, IL-4, TNF α , PGE2を加えて1週間培養した。その後FACSにてCD80, CD86, CD11c, HLA-DRなどの発現状況を確認してDCへの分化を確認し、Monocyte-derived DC（MDDC）分画とした。また、末梢血よりPBMCを分離、B細胞と単球をデプリーションした後、CD11c, CD141, CD304の発現に基づいてMyeloid DC（MDC, 1 MDC 2）とPlasmacytoid DC（PDC）

をポジティブセレクションし、両者を合わせてPDC+MDC分画とした。TrについてはPBMCから同様に磁気ビーズ法にてCD4+CD25+T細胞（Tr）を分離した。次にそれぞれの分画からRNAを抽出した後real-time（RT）PCR法によりTLR 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9のmRNAレベルの発現を検討した。

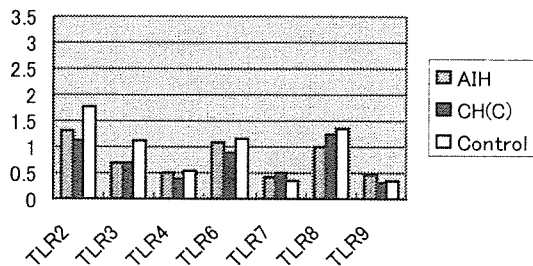
C. 研究結果

末梢血液中に存在するTrには、わずかにTLR 3, 4, 7, 9が、また比較的多くTLR 6が発現していた。AIH患者、C型慢性肝炎患者および健常者の各群間の比較では、C型慢性肝炎患者においてTLR 6の発現が亢進しており、TLR 9の発現は逆にC型慢性肝炎患者において減弱していた。末梢血中の単球から誘導したMDDCには3群ともTLR 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9のすべてが発現していた。末梢血中に存在しているDC（PDC+MDC）においては、健常者では主としてTLR 3, 4, 6, 7, 9の発現亢進が認められ、とくにTLR 9の発現亢進が著明であったのに対してAIH患者の末梢血中に存在しているDC（PDC + MDC）ではTLR 6のみが発現しており、健常者の発現パターンとは大きく異なっていた。

TrにおけるTLRの発現



MDDCにおけるTLRの発現

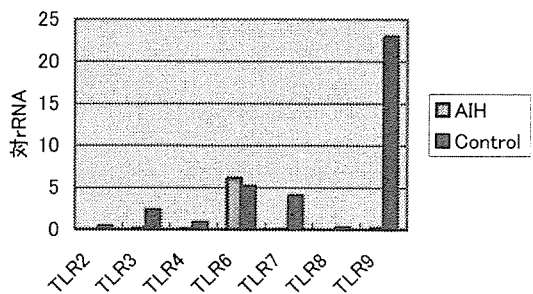


autoimmune hepatitis. The 57th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, 2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

PDC+MDCにおけるTLRの発現



D. 考 察

Tr上にはいくつかのTLRファミリーが発現していることが明らかになった。その発現形態はAIH患者およびC-CH患者では健常人とは異なっており、TrがTLRを介してそれぞれ異なったシグナルにより刺激を受けている可能性が示唆された。また、末梢血中のDCにおけるTLRの発現形態はAIH患者と健常人とは大きく異なっており、AIHにおいては健常人とは異なった機序によるDCの活性化や抗原提示が行われている可能性が示唆された。今後はDCにおけるTLRの発現プロファイルの差がTrの活性化にどのような変化をもたらしているかをさらに詳しく解析することによって、AIHの病態を解明していきたい。

E. 結 論

末梢血中のDCとTrにおけるTLRの発現形態の差異がAIHの病態形成に関連している可能性が示唆された。

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
 - 1) 奥村明彦, 石川哲也, 伊藤弘康, 他: 自己免疫性肝炎 (AIH) 患者の制御性T細胞 (Tr) におけるToll-like receptor (TLR) の発現プロファイルに関する検討～健常人・C型慢性肝炎患者との比較～. 第42回日本肝臓学会総会, 京都, 2006.
 - 2) Okumura A, Ishikawa T, Sato S, et al : Expression of Toll-like receptor family on regulatory T cells in the patients with

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

自己免疫性肝疾患における抗リポ蛋白リパーゼ抗体の臨床的意義

研究協力者 池田 有成 東京厚生年金病院 内科 部長

A. 研究目的

全身性強皮症 (systemic sclerosis ; SSc) は、皮膚や全身の諸臓器に過度の繊維化をきたす結合組織病であり、さまざまな自己抗体がSSc患者の90%以上に検出される。指尖部潰瘍、肺高血圧症、強皮症腎などを生じる微小血管障害がSScの主要な病態のひとつである一方、SSc患者における動脈硬化性障害も近年認知されるようになってきた。その一因として抗リポ蛋白リパーゼ抗体 (抗LPL抗体) が関与した自己免疫性であるとした報告が近年なされ、また、全身性エリテマトーデス (SLE) 患者においても、この自己抗体が障害を増大させている一因であるとの報告もある。動脈硬化性大血管障害の合併が臨床上大きな問題となっている現在、その頻度は年齢、性別、肥満、喫煙、高血圧などの古典的な危険因子だけでは説明できないほど高い頻度で存在している。今回我々は以上の知見により、まだ報告例のない自己免疫性肝疾患患者における高脂血症の頻度を調べると共に、抗LPL抗体の存在及び臨床症状との相関を解析し、血管障害の因子としての可能性について考察し、臨床的意義について検討する。

B. 研究方法

同意の得られた東京厚生年金病院 内科、及び東京通信病院 消化器内科受診患者の血清86例 (自己免疫性肝炎 (AIH) 34例、原発性胆汁性肝硬変 (PBC) 52例) についての抗リポ蛋白リパーゼ抗体価を最適測定条件下のELISA法にて測定し、生化学データ (脂質) との関係を検討した。

C. 研究結果

1. 当医院 (東京厚生年金病院 内科) 受診の自己免疫性肝疾患 (AIH : 14例、PBC : 35例) における高脂血症 (正常値以上) の割合は、トリグリセライド (TG) において、AIH : 57.1%、PBC : 14.2% であり、PBCに比べてAIHに多くみられた。T-Cholは、AIH : 14.2%、PBC : 11.4% HDLは、AIH : 0.0%、PBC : 0.0%、LDLは、AIH : 0.0%、PBC : 11.4%であった。
2. 使用抗原として2社のものを比較検討したところ、起源として、細菌 (Pseudomonas sp.) のものよりもBobin milk起源のものの方が、抗原性が良好であった。
3. 最適測定条件を検討したところ抗原濃度は40 μl /ml : 50 μl (文献値 50 μl /ml : 100 μl)、血清希釈倍率 50倍 (文献値 100倍) であった。
4. SLEの患者17例の血清にて抗LPL抗体の陽性率

を検討したところ、8例 (47.1%) に陽性がみられ、報告例 (文献値 Reichlin et al. : 46.7% (n=105)) と相関した結果が得られた。

5. 正常者群 (n=12) における抗LPL抗体の陽性率は8.3%であった。(1例陽性) カットオフ (平均値 + 2SD ; 0.539 + 2 \times 0.119) に設定した。
6. 自己免疫性肝疾患患者における抗LPL抗体の陽性率はAIHは34例中3例、8.8%、PBCは52例中0例、0.0%であった。抗LPL抗体が陽性であった2例についてTG値を測定したところ正常範囲より高い値を示した。
7. 抗LPL抗体の抗体価とTG値の間に、全く相関はみられなかった。(AIH ; r = 0.26, PBC ; r = 0.02)

D. 考察

脂質代謝異常の成因は、多様かつ複合的と考えられ、古典的危険因子に加えて、自己抗体によるものや、全身性炎症反応によるもの、疾患修復薬としてのステロイド剤や免疫抑制剤の影響も考慮すべきであり、また、抗LPL抗体に多様性があるとの報告もあり、十分に注意したうえで検討すべきである。今回検討した血清は、治療中のものが多く含まれていたため、正確な結果が見出せなかったと予測され、動脈硬化性大血管病変を進展させる新たな因子として、抗LPL抗体が注目されており、今後、これらの点を踏まえた上で、長期的な観察が必要と考えられた。

E. 結論

自己免疫性肝疾患における高脂血症の割合は、トリグリセライド (TG) において、AIH : 57.1%、PBC : 14.2%であり、PBCに比べてAIHに多くみられた。抗LPL抗体の陽性率はAIHにおいて8.8%、PBCは0.0%であった。また、TG値の間に、全く相関はみられなかった。

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 (予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 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

自己免疫性肝疾患における種々の合併症

研究協力者 池田 有成 東京厚生年金病院 内科 部長

研究要旨：自己免疫性肝疾患（自己免疫性肝炎（AIH）と原発性胆汁性肝硬変（PBC））は、治療経過が長く、中高年症例が多いことから、経過中に種々の合併症を併発する可能性がある。そこで、合併症の種類と多様性を検討した。当研究班の診断基準に合致するAIH45例、PBC100例を対象とした。合併症は、一過性、継続中の別を問わず広く検討した。対象は50～60歳台の中高年例が多く、男性はAIHで9%、PBCで15%だった。AIH1例での合併症数は0から6疾患だった。AIH群、PBC群とも、自己免疫性疾患の合併が多く、Sjögren症候群と甲状腺炎は両群で多かった。今回の検討では、CREST症候群はPBC群でのみ認められた。自己免疫性疾患以外では両群とも、消化器疾患、代謝性疾患の順で、胆石は、AIHよりPBCで多かった。更に、AIHでは、循環器疾患、整形外科疾患、新生物と続き、PBCでは、新生物、循環器疾患、整形外科疾患の順だった。新生物では、肝細胞癌はAIHより、PBCで多かった。HBVキャリアは両群共に認めず、HCV感染者はPBC群に1例のみだった。PBCでは、総胆管拡張が4例に認められた。AIH、PBC症例は、悪性疾患を含む多様な合併症を経験することが確認できた。種々の合併症に注意しながら原疾患治療を継続することが望ましいと考えられた。

共同研究者

橋本 直明 東京通信病院 消化器科

細田 英雄 東京厚生年金病院 中央検査室

A. 研究目的

自己免疫性肝疾患（自己免疫性肝炎（AIH）と原発性胆汁性肝硬変（PBC））は、長期間の治療を必要とする疾患である。治療経過中には種々の合併症を併発する可能性があり、合併症の制御や治療は患者の生活の質や予後に大きく影響すると考えられる。しかし、合併症の詳細についてはまだ十分には検討されていないと思われる。今回は合併症の種類と多様性について検討を行うこととした。

B. 研究方法

対象は、両病院のいずれかで診療を受けた、AIH45例と、PBC100例である。診断はAIH、PBCとも、当研究班の診断指針により、AIHは国際診断基準を参考に行った。合併症は、診療中のものも一過性の既往歴も、いずれも検討の対象とし、AIHやPBCの診断の以前のものも、以後のものも含めて検討した。症例の通院期間は約1年から約20年まで多様だった。

C. 研究結果

患者の年齢分布を表1に示す。AIHでは、わが国の既報と一致して、50～60歳台に一つのピークが認められた。PBC症例も60歳台にピークを示した。男性症例の占める割合は、AIHでは8.9%（4/45）、PBCでは15%（15/100）であった。一人の患者での合併症の数はAIHでのみ検討したが、0から6疾患に分布した（表2）。

合併症の種類と数を表3、表4に示す。AIH群（表3）、PBC群（表4）とも、自己免疫性疾患の合併が

多かった。Sjögren症候群と甲状腺炎は両群で共に多く認められたが、CREST症候群はPBC群でのみ認められた。自己免疫性疾患以外では両群とも、消化器疾患、代謝性疾患の順であった。胆石は、AIHよりPBCで多く認められた。代謝性疾患の後、AIHでは、循環器疾患、整形外科疾患、新生物と続くが、PBCでは、新生物、循環器疾患、整形外科疾患の順であった。新生物では、肝細胞癌（HCC）はAIHより、PBCで多く認められた。なお、HBVキャリアは両群共に認められず、HCV感染者はPBC群に1例のみ（1%：1/100）であった。その他にも、比較的稀な疾患が両群に散見された。また、PBC症例の中には、胆管拡張所見が4例に認められた。

D. 考察

AIHではこれまで、自己免疫性疾患の合併や、ステロイド治療の合併症、或いは、長期経過例でのHCCの発癌が報告されてきた¹⁾。一方PBCでは、自己免疫性疾患の他、骨合併症、皮膚掻痒、悪性疾患（HCCを含む）、胆石などが報告されてきた²⁾。AIH、PBCとも、長期の治療経過を必要とする症例が多く、患者の多くは中高年者であることから、治療経過中には種々多様な合併症を経験する可能性が考えられる。

自己免疫疾患の合併が多かったのは臨床経験からも納得出来ることと思われ、AIH、PBCが共に自己免疫性疾患であることの傍証の一つとも考えられよう。CREST症候群は今回はPBC群でのみ認められたが、AIHにも合併することが知られている³⁾。AIHとPBCとでは頻度に差のある可能性も考えられる。

消化器疾患、代謝性疾患が多かったのは、中高年者が多かったこととも関係していると考えられる。特に胆石はPBCとの関係が知られている。今回のAIH群にはHBV、HCVのキャリアは含まれなかったが、

PBC群にはHCVキャリアが1例含まれた(1/100で1%だった)。後者は、中高年症例が多かった点を考慮すれば、一般人口よりも低い感染率であると考えられよう。

悪性疾患も、二重癌例2例を含めて9~14%程度に認められた。PBCでのHCC例の大半は臨床的に肝硬変の時期のものだった(1例は剖検でもⅡ期の症例だった)。肝硬変の時期のPBC例ではHCCの発生に留意する必要があると考えられた⁴⁾。

総胆管の拡張はPBCの4例で認められた。2例は胆摘後であるが、うち1例では胆摘の3年後の径が77mmだったのがその2年後に17mmに拡張し、原因不明だった。最近、PBCの動物モデルで、胆道系の拡張が報告されたことから興味深い臨床所見と思われた⁵⁾。

E. 結 論

以上、AIH、PBCの治療は、他の自己免疫疾患のみならず、消化器疾患、代謝性疾患、循環器疾患などの内科疾患、新生物などの外科疾患、整形外科疾患などに注意しながら行うことが望ましいと考えられた。

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

- 1) Hashimoto N, Ikeda Y, Sato Y, et al : Diversity of complications in patients with autoimmune liver diseases. The 5th JHS Single Topic Conference, Nagasaki, 2006.
- 2) 池田有成, 他 : 総胆管拡張を伴った原発性胆汁性肝硬変の1例. 第293回日本消化器病学会関東支部例会, 東京, 2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

(参考文献)

- 1) 岡博, 戸田剛太郎, 池田有成 : 自己免疫性肝炎全国調査報告. 厚生省特定疾患難治性の肝炎調査研究班昭和63年度研究報告. 237-241, 1988.
- 2) 廣原淳子, 他 : 原発性胆汁性肝硬変全国調査(第23報). 厚生労働科学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14年度研究報告書. 55-59, 2003.
- 3) Yabe H, et al : A case of CREST syndrome with rapidly progressive liver damage. Intern Med 31 : 69-73, 1992.
- 4) Shibuya A, et al : Hepatocellular carcinoma and survival in patients with primary biliary

cirrhosis. Hepatology 35 : 1172-1178, 2002.

- 5) Irie J, et al : NOD.c3c4 congenic mice develop autoimmune biliary disease that serologically and pathogenetically models human primary biliary cirrhosis. J Exp Med 203 : 1209-1219, 2006.

表1 : 自己免疫性肝炎(AIH)と原発性胆汁性肝硬変(PBC)の年齢, 性別分布

年齢(歳)	AIH群	PBC群
~19 :	1	0
20~ :	2 (m:1)	1
30~ :	2	2 (m:1)
40~ :	4	11 (m:1)
50~ :	14 (m:1)	26 (m:3)
60~ :	15 (m:2)	33 (m:4)
70~ :	7	24 (m:5)
80~ :	0	3 (m:1)
合 計	45 (m:4)	100(m:15)

m : 男性症例

表2 : 自己免疫性肝炎症例の合併症の数

合併症の数	症 例 数
0 :	3 (例)
1 :	11 (例)
2 :	8 (例)
3 :	12 (例)
4 :	7 (例)
5 :	3 (例)
6 :	1 (例)
合 計	45 (例)

表3 : 自己免疫性肝炎の合併症(45症例)

自己免疫疾患 27	Sjögren症候群	8
	甲状腺炎	8
	Raynaud現象	3
	関節リウマチ	3
	大動脈炎症候群	1
	成人型Still病	1
	Sweet氏病	1
	混合結合織病(MCTD)	1
掌蹠膿胞症	1	
消化器疾患 28	虫垂炎	6
	大腸ポリープ	4
	胆石	3
	胆嚢ポリープ	3
	食道静脈瘤	3
	逆流性食道炎	3
	消化性潰瘍	2
	慢性膵炎	2
胃ポリープ	1	
胃管状腺腫(ATP)	1	
代謝性疾患 18	高コレステロール血症	7
	高中性脂肪血症	5
	糖尿病	4
	高尿酸血症	2

循環器疾患 1 3	高血圧 心筋症 狭心症 発作性心房細動	9 2 1 1
整形外科疾患 1 3	骨関節症 骨粗鬆症 脊椎圧迫骨折 関節痛 骨折（交通事故） 胸肋鎖骨化症	4 4 2 1 1 1
新生物 7	悪性： 胃癌 肝細胞癌 乳癌 腎盂移行上皮癌 良性： 下垂体腺腫 卵巣嚢腫	2 1 1 1 1 1 1
呼吸器疾患 6	気管支喘息 結核 気管支拡張症	3 2 1
泌尿器科疾患 6	尿路結石 顕微鏡的血尿 腎盂腎炎 神経因性膀胱	3 1 1 1
中枢神経発作 2	TIA 脳梗塞	1 1
その他 1	うつ病	1

表 4：原発性胆汁性肝硬変の合併症（100症例）

自己免疫疾患 6 8	Sjogren症候群 甲状腺炎 Raynaud症状 強皮症 CREST症候群 関節リウマチ 尋常性乾癬 多発筋炎 白皮症 cryoglobulinemia ブドウ膜炎	25 14 7 6 6 4 2 1 1 1 1
消化器疾患 7 3	胆石 虫垂炎 消化性潰瘍 食道静脈瘤 大腸ポリープ 総胆管拡張 肝不全 膵炎 薬物性肝障害 胆嚢ポリープ 逆流性食道炎 胃炎 虚血性腸炎 痔手術 HCVキャリア ICG排泄異常症	18 10 10 9 9 4 2 2 2 1 1 1 1 1 1 1 1
代謝性疾患 3 6	高コレステロール血症 高中性脂肪血症 糖尿病 高尿酸血症 クッシング症候群	21 6 6 2 1

新生物 2 2	悪性：16 肝細胞癌 乳癌 肺癌 胃癌 膵癌 大腸癌 胆嚢癌 良性：6 子宮筋腫 脳腫瘍 盲腸絨毛腺腫 気管支乳頭腫 聴神経腫瘍 回盲弁脂肪腫	7 3 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1
循環器・血管疾患 2 4	高血圧 大動脈全周性石灰化 心筋症 陳旧性心筋梗塞 sick sinus syndrome 大動脈弁閉鎖不全 下肢血栓性静脈炎 下肢静脈瘤	16 2 1 1 1 1 1 1
整形外科疾患 1 8	骨関節症 脊椎圧迫骨折 関節痛 脊椎すべり症 椎間板ヘルニア手術 前腕骨折 腰痛症 骨粗鬆症 頸椎症	6 3 2 2 1 1 1 1 1
泌尿器科疾患 1 4	尿路結石 腎盂腎炎 膀胱炎 顕微鏡的血尿 膀胱手術	6 4 2 1 1
呼吸器疾患 1 0	気管支喘息 肺結核 非定型抗酸菌感染 気管支拡張症	5 3 1 1
中枢神経発作 4	脳出血 脳梗塞 TIA	2 1 1
血液疾患 3	再生不良性貧血 骨髄異形成症（MDS-RAEB）	2 1
その他 6	緑内障 慢性腎不全 熱傷皮膚移植 結節性紅斑	2 2 1 1

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

寛解期肝組織所見からみた自己免疫性肝炎の治療と再燃

—国立病院機構 肝疾患ネットワーク研究—

研究協力者 渡部 幸夫 国立病院機構相模原病院 消化器科 部長

研究要旨：自己免疫性肝炎（AIH）治療で完全寛解期を維持できた場合、その後の治療はいかにあるべきかを模索するため以下の検討を行った。完全寛解期に肝生検が施行された症例を対象に肝生検所見や肝機能検査、以後のステロイド（PSL）治療内容について検討し、以後のAIH再燃を生じる要因を抽出した。寛解期の肝生検組織所見における線維化、グ鞘炎、interface hepatitis、小葉炎の4項目についてその程度を解析した結果、4項目の中ではinterface hepatitisの存在がやや目立ったが、肝炎再燃に関与する因子としてはいずれも統計学的には有意にはならなかった。肝組織所見以外に、寛解期間中の肝炎再燃の既往や生検前寛解期間の長短、寛解期の免疫グロブリン値、抗核抗体の力価も以後の肝炎再燃に寄与する因子とはならなかった。ただ、寛解期のALT値においては21IU/L以上か否かで以後の肝炎再燃の指標となる結果が得られた。さらに、寛解期肝生検以後のPSL治療において投与量を減量もしくは中止することが後の肝炎再燃を早期に生じる要因として挙げられた。今回の検討からはAIHにおける寛解期の肝生検所見からは長期経過における肝炎再燃を予測することは困難であり、むしろ肝機能検査上ALT値を20 IU/L以下に下げることと、長期のPSL維持治療継続がその後の肝炎再燃を抑制する要因として挙げられた。

共同研究者

中村 陽子 相模原病院 消化器科 医師
三富 弘之 相模原病院 研究検査科病理 医長
石橋 大海 国立病院機構長崎医療センター
臨床研究センター長

A. 研究目的

自己免疫性肝炎（AIH）の長期予後を改善するため、適切なPSL治療とはいかにあるべきか。維持治療の投与量設定をどうすべきか、治療期間はいつまで必要かなど解決されていない問題点が多い。寛解期を長く維持している期間に肝生検を行い、その所見から以後の治療継続の必要性や治療投与量のある程度決定できれば、極めて重要な指標となり得ると考えた。寛解期の状態から以後の肝炎再燃に関与する要因を抽出し、それに応じてより適切な治療を選択することでPSLの副作用をできる限り軽減し、肝炎再燃を抑制して肝硬変への進展を予防することが目的である。

B. 研究方法

一施設でAIH寛解期の肝生検などを多数解析することは困難である。国立病院機構肝疾患ネットワーク参加施設の協力を得て多数のAIH長期治療例や複数回の肝生検例を抽出した。そのなかで今回は寛解期肝生検組織の解析可能な症例について臨床経過や治療方法をあわせて検討した。

対象と方法：国立病院機構肝疾患ネットワーク参加施設において、発症初期の肝生検があり、PSL治療において安定した寛解期が得られ、かつ寛解期に再度の肝生検のある18例を対象とした。対象例の所属施設は国立病院機構長崎医療センター9例、相模原病院8例、東京病院1例である。

肝組織所見の分類は、長崎医療センターの方法に準じて線維化、グ鞘炎、interface hepatitis、小葉炎の4項目につき0～4（たとえば線維化の4は肝硬変というように4の方の所見が強い）の5段階評価を病理医2名、臨床医3名の総合評価で行った。

18症例の肝組織所見のほかに、PSL初期投与量、維持量、完全寛解期間、肝機能検査値、以後の再燃の有無を含めた臨床経過などを検討項目とした。統計解析にはCox比例ハザード法（SPSS第13版）を用い、9例は寛解期肝生検以後の肝炎再燃発症時をエンドポイントとし、再燃のない9例は経過観察期間で打ち切り例とした。

（倫理面への配慮）

AIH登録調査は各施設において、書類上で本人同意を得た。

C. 研究結果

1) 背景

対象18例の背景因子は、性別は全員女性。発病時平均年齢は60.3±8.5歳、診断時肝機能検査成績平均はAST 747.4 IU/ℓ、ALT 698.5 IU/ℓ、T.Bil 5.9mg/dℓ、IgG 2461mg/dℓであった。全員にPSL治療が行われ、1例は初期に他の免疫抑制剤の併用が行われたが、いずれも後に完全寛解を得ており、PSLが著効する症例であった。初期PSL投与量は60mgが6例、40mgが7例、30mgが5例であった。診断からの全観察期間の平均は8.2年（中央値7.1年）（最短3.0年、最長22.6年）と長期であった。初期肝生検から寛解期肝生検までの間隔は平均3.5年（中央値2.0年）（最短7.2ヶ月、最長21.3年）。6例には治療中に軽度の再燃があったがいずれも後に完全寛解を得ている。寛解期肝生検に至る以前の寛解期

間平均は2.7年（中央値1.9年）（最短6.8ヶ月，最長11.6年）であった。寛解期肝生検からの経過観察期間の平均は4.7年（中央値3.1年）（最短10ヶ月，最長12.6年）

2) 肝生検組織所見

対象18例の初回肝生検時の組織所見①線維化，②グ鞘炎，③Interface hepatitis，④小葉炎についてのそれぞれの平均点数は，①2.0（中央値2.3），②2.6（中央値2.7），③2.5（中央値3.0），④2.7（中央値3.0）であった。寛解期の肝組織所見のそれぞれの平均点数は①1.0（中央値1.0），②0.9（中央値1.0），③0.4（中央値0.3），④0.5（中央値0.5）であった。いずれも有意に改善が認められるが，グ鞘炎，Interface hepatitis，小葉炎の各炎症の改善変化に比べて線維化改善がやや乏しい傾向にはあった（図1）。

3) 寛解期肝生検時から以後の肝炎再燃に関する因子の検討

寛解期肝生検以後の経過で肝炎再燃が生じた症例は18例中9例であった。9例の再燃までの期間の平均は2.3年（中央値1.8年）（最短2ヶ月，最長6.2年）であった。一方，その後再燃のない9例の寛解期肝生検以後の観察期間平均は3.5年（中央値3.0年）（最短10ヶ月，最長10.3年）であった。再燃のある9例はPSL減量が4例，中止が3例であった。非再燃9例もPSL減量が3例，中止が2例あった（表1）。再燃例と非再燃例に分けて，寛解期の肝組織所見や肝機能検査，IgG値，抗核抗体を比較したが明らかな差は見出せなかった（表2）。肝炎再燃に関する要因を詳細に検討するため，肝炎再燃をエンドポイントにおきCox比例ハザード法を用いた解析（SPSS第13版）を行った（表3）。寛解期肝組織所見とその他の因子を投入して解析した結果，肝組織所見からは有意な因子が同定できず，むしろ以後のPSL減量や中止という治療内容の要因が有意であった。減量もしくは中止例と維持投与例を分けてPSL治療経過を図示してみると，早期再燃例にはPSL減量や中止例が多い（図2）。

さらに，寛解期肝生検時のALT値が統計上再燃に関して有意であった。ALT値は，基準値内であっても21 IU/ℓ以上の場合に早期に再燃が起こり易い結果であった（表4）。ほかに年齢，初期PSL量や維持投与量の多寡，途中再燃既往の有無，完全寛解期間の長短，IgG値，抗核抗体力価による有意差は認めなかった。

寛解期肝組織所見の4項目はいずれも肝炎再燃に関する有意な要因ではなかったが，4項目の中ではinterface hepatitisのハザード比が他より大きく，最も関連が示唆された（表5）。寛解期の肝組織所見から再燃を正確に予測することは困難であると考えられる。PSLを中止する際には再燃をするリスクを考え，長期の経過観察と再燃時早期の対応を要すると考える。

D. 考 察

今回の寛解期肝生検では前寛解期間が2.7年と長く，肝組織の炎症は軽微であると思われた。さらに生検後にPSL治療を速やかに中止した症例はない。以後の肝炎再燃を生じるか否かに関しては，寛解期肝生検組織4項目の中ではinterface hepatitisの関連がいくらか示唆されたに過ぎないが，肝組織所見の中では最も重要で注意を要する要因であることは確かである。

寛解期肝組織の線維化，グ鞘炎，interface hepatitis，小葉炎はいずれも治療前からは明らかに改善している。寛解期にはわずかな炎症の残存がある場合と，ほとんど炎症所見がない場合がある。その違いは以後の肝炎再燃に大きく寄与するものではなかった。肝生検の部位によるサンプリングの差も有り得るであろう。さらには，個人の免疫学的背景が異なることも含め，肝炎の再燃を生じる病態は画一的ではない。完全寛解で肝組織が完全に正常化して安定していても，AIHの病態が惹起されることも有り得る。肝炎再燃を長期経過で予測することは甚だ難しい。

寛解期肝生検以後の肝炎再燃に関する要因として，維持投与中のPSLを減量や中止することが有意に挙げられた。これは早期の再燃を予防するには長期維持投与の方が望ましいと考えられた。

さらに，寛解期肝生検時の肝機能検査のうちALT値が基準値内でも21 IU/ℓ以上であると肝炎再燃を来たしやすくする要因として挙げられた。肝機能は基準値内にあれば完全寛解して安定しているということではなく，20 IU/ℓ以下の値まで下降している場合において，肝炎再燃が起こりにくい完全寛解状態といえる結果であった。

寛解期以後の軽い肝炎再燃が大きく予後を変えるものではないが，検査間隔が延びて肝炎再燃を気づかず速やかな対応が遅れ，また再三肝炎再燃を繰り返すと肝硬変へ進展する危惧が生じ，予後が悪化する。AIH寛解期以降の治療を考える際には，以後の肝炎再燃をできる限り少なくするために肝生検でInterface hepatitisがある場合はPSL減量中止をかなり遅らせるべきである。また，ALT値21 IU/ℓ以上の場合にも治療は継続してなるべく減量や中止は遅くすべきである。

E. 結 論

米国のCzajaらは，AIHでは肝生検でinterface hepatitisがあるときに治療中止すると必ず再燃することや，肝組織が正常化しても治療中止で20%に再燃があると報告している。日本と米国では遺伝的背景が異なりAIHの病態は必ずしも同一ではないと考えられる。日本での肝組織データ解析はまだ乏しいのが現状である。寛解期が長期に続いた場合に，治療はどのようにすべきかについて未だ指標がない。まれな疾患であるAIHの長期予後を更に改善するためのEBMを集積するためには，多くの施設が協力し更なる症例の積み重ねが必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 渡部幸夫：自己免疫性肝炎の予後は治療でどう改善されたか？ Medical Practice 23, 63-67, 2006.

2. 学会発表

1) 中村陽子, 渡部幸夫, 大黒学：肝組織変化からみた自己免疫性肝炎の長期経過と治療による修飾. 第8回日本肝臓学会大会, パネルディスカッション, 福岡, 2004.

2) 中村陽子, 渡部幸夫, 石橋大海, 他：肝ネットワークにおける自己免疫性肝炎の診断と治療の現状(共同) 第59回国立病院総合医学会, 広島, 2005.

3) Nakamura Y, Watanabe Y, Ishibasi H et al: Evaluation of the therapy according to the pathology of AIH patients in their remission stage. The 5th JSH Single Topic Conference, Nagasaki, 2006.

表1：寛解期肝生検後の再燃と治療

再燃	9例	PSL減量再燃	4例
再燃までの期間	2.3年	PSL中止再燃	3例
(中央値)	1.8年)	維持再燃	2例
非再燃	9例	PSL減量	3例
観察期間	3.5年	PSL中止	2例
(中央値)	3.0年)	維持投与	2例

(肝生検後観察期間 4.7年)

H. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表2：寛解期肝組織所見・検査値と以後の再燃の有無

再燃例

年齢・性	PSL量	線維化	グネ炎	Interface h.	小葉炎	AST	ALT	IgG	ANA
54F	15	1.33	1.00	0.33	1.00	10	10	2002	—
69F	5	1.00	1.00	0.50	0.50	32	23	1357	40
60F	5	1.00	1.50	0.33	0.50	16	22	1510	—
57F	7.5	0.83	0.00	0.00	0.00	9	10	1084	20
50F	7.5	1.25	1.00	0.25	0.00	32	33	1230	80
68F	5	1.00	1.17	1.00	1.00	25	19	1004	—
80F	5	0.50	1.75	0.50	0.50	23	11	1100	40
55F	5	1.00	1.00	1.00	1.00	31	36	1100	—
73F	5	0.83	0.00	0.00	0.00	25	17	未検	—

非再燃例

69F	10.0	0.00	0.25	0.25	0.00	25	21	1090	80
69F	10.0	0.00	0.00	0.00	0.50	15	12	707	640
68F	5.0	2.00	1.75	1.75	0.75	31	20	1130	—
59F	5.0	1.00	1.00	0.00	0.00	23	15	1130	—
52F	2.5	1.83	1.00	1.00	1.00	18	17	1191	—
69F	2.5	1.00	1.00	0.00	0.17	18	16	1285	40
61F	5.0	1.00	2.00	1.00	1.00	20	16	1790	160
61F	1.7	1.00	0.00	0.00	0.00	20	8	1420	40
73F	2.5	1.00	0.25	0.00	0.25	32	24	1380	320

図1：急性期と寛解期の肝組織変化

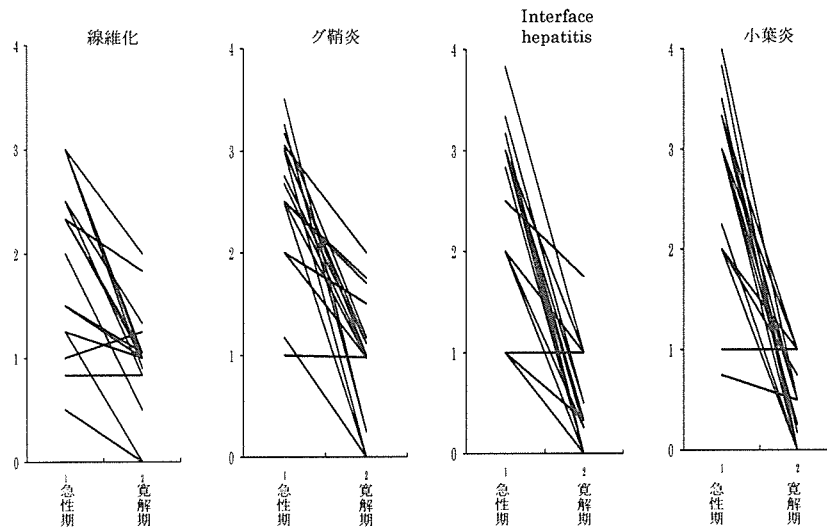


図2：寛解期生検からの治療と再燃について

症例	生検までの PSL投与期間	寛解期生検からのPSL治療経過	生検から 再燃までの期間	
S.Y.	(19ヶ月)	7.5mg▶5▶再燃	(2ヶ月)	減量再燃
O.S.	(21)	5mg▶2.5▶中止▶再燃	(8)	中止再燃
N.K.	(13)	5mg▶中止▶再燃	(8)	中止再燃
T.T.	(65)	5mg→2.5→→再燃	(21)	減量再燃
O.M.	(7)	10mg▶7.5▶5→	(22)	減量
I.K.	(9)	10mg▶7.5▶5→	(26)	減量
F.K.	(29)	2.5mg▶中止▶	(27)	中止
Y.K.	(19)	7.5mg▶5→2.5→→再燃	(29)	減量再燃
I.H.	(45)	2.5mg▶中止▶	(36)	中止
Y.M.	(39)	5mg→4▶3→→中止▶再燃	(38)	中止再燃
F.F.	(57)	5mg→→2.5→1.75→	(38)	減量
M.T.	(13)	15mg▶10→→→→→5▶再燃	(61)	減量再燃
S.S.	(54)	5mg→→再燃	(4)	維持再燃
T.T.	(255)	2.5mg→→	(10)	
K.M.	(27)	5mg→→→→	(50)	
N.Y.	(11)	5mg→→→→	(50)	
I.U.	(20)	5mg→→→→→再燃	(74)	維持再燃
O.S.	(57)	1.75mg→→→→→→→	(124)	

表3：寛解後の肝炎再燃に関する要因の解析

	有意確率	ハザード比	ハザード比95%CI
ALT高/低	0.040	7.844	1.102~ 55.820
PSL中止/減量	0.039	17.872	1.164~274.331
肝組織 (線維化)	0.406	2.451	0.295~ 20.326
(グネ炎)	0.518	0.517	0.070~ 3.807
(Interface H)	0.421	3.413	0.172~ 67.740
(小葉炎)	0.725	0.532	0.016~ 17.894

(Cox比例ハザード分析)

表4：寛解期生検におけるALT値と以後の再燃

症 例	線維化	グ靱炎	Interface Hepatitis	小葉炎	ALT	PSL 中止/減量	再燃	再燃までの期間 (M)	以後の期間(M)
S.S.	1	1	1	1	36		再燃	4	
S.Y.	1.3	1	0.3	0	33	減量	再燃	2	
T.T.	1	0.3	0	0.3	24				11
N.K.	1	1	0.5	0.5	23	中止	再燃	8	
I.U.	1	1.5	0.3	0.5	22		再燃	84	
O.M.	0	0.3	0.3	0	21	減量			16
N.Y.	2	1.8	1.8	0.8	20				38
O.S.	1	1.2	1	1	19	中止	再燃	8	
F.K.	1.8	1	1	1	17	中止			27
T.T.	0.8	0	0	0	17	減量	再燃	21	
F.F.	1	2	1	1	16	減量			38
I.H.	1	1	0	0.2	16	中止			36
K.M.	1	1	0	0	15				38
I.K.	0	0	0	0.5	12	減量			13
Y.M.	0.5	1.8	0.5	0.5	11	中止	再燃	38	
Y.K.	0.8	0	0	0	10		再燃	29	
M.T.	1.3	1	0.3	1	10	減量	再燃	61	
O.S.	1	0	0	0	8				124

表5：寛解期肝組織所見と以後の再燃

症 例	線維化	グ靱炎	Interface Hepatitis	小葉炎	再燃の有無	再燃までの期間 (M)	以後の期間(M)	ALT	PSL維持量 (mg/day)	PSL 減量/中止
N.Y.	2	1.8	1.8	0.8			50	20	5	
O.S.	1	1.2	1	1	再燃	8		19	5	減量/中止
S.S.	1	1	1	1	再燃	4		36	5	
F.F.	1	2	1	1			38	16	5	減量
F.K.	1.8	1	1	1			27	17	2.5	中止
Y.M.	0.5	1.8	0.5	0.5	再燃	38		11	5	減量/中止
N.K.	1	1	0.5	0.5	再燃	8		23	5	中止
I.U.	1	1.5	0.3	0.5	再燃	74		22	5	
M.T.	1.3	1	0.3	1	再燃	61		10	15	減量
S.Y.	1.3	1	0.3	0	再燃	2		33	7.5	減量
O.M.	0	0.3	0.3	0			22	21	10	減量
T.T.	0.8	0	0	0	再燃	21		17	5	減量
Y.K.	0.8	0	0	0	再燃	29		10	7.5	減量
I.H.	1	1	0	0.2			36	16	2.5	中止
T.T.	1	0.3	0	0.3			10	24	2.5	
K.M.	1	1	0	0			50	15	5	
I.K.	0	0	0	0.5			26	12	10	減量
O.S.	1	0	0	0			124	8	1.7	