

III-1. 自己免疫性肝炎分科会

1. 自己免疫性肝疾患におけるTr1, Th17の動態	13
東京慈恵会医科大学大学院医学研究科 器官病態・治療学 消化器内科 教授 錢谷 幹男	
2. 自己免疫性肝炎における遺伝子多型と病態および臨床応用に関する検討	15
兵庫医科大学 内科学肝胆膵科 教授 西口 修平	
3. 自己免疫性肝炎におけるTreg及びTh17の動態	17
慶應義塾大学医学部 消化器内科 教授 日比 紀文	
4. 自己免疫性肝疾患における免疫応答関連遺伝子のDNA多型の解析	19
昭和大学医学部 第二内科 教授 井廻 道夫	
5. 多変量モデルによる自己免疫性肝炎診断の検証研究	20
神奈川歯科大学附属病院 内科 教授 森實 敏夫	
6. 自己免疫性肝炎非定型例に対する治療の検討	24
虎の門病院 臨床検査部 副部長 鈴木 義之	
7. 自己免疫性肝炎治療と肝組織所見の変化について—複数回生検所見の検討—	26
国立病院機構相模原病院 消化器科 部長 渡部 幸夫	
8. 小児期発症自己免疫性肝疾患の実態	29
済生会横浜市東部病院 こどもセンター 部長 藤澤 知雄	
9. 自己免疫性肝炎の経過と遺伝的素因	30
信州大学医学部 内科学第二 講師 吉澤 要	

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Tr1, Th17の動態

研究協力者 銭谷 幹男 東京慈恵会医科大学大学院医学研究科 器官病態・治療学 消化器内科 教授

研究要旨: 自己免疫性肝疾患における, 制御性T細胞であるIL-10産生性Tr1および新たに同定されたエフェクターT細胞のTh17の動態を検討した。健常人に比し原発性胆汁性肝硬変 (PBC) では, CD4細胞のCD46刺激によるIL-10産生が有意に低く, IL-23刺激によるIL-17産生が有意に高いことが明らかとなったが, IL-10, IL-17産生動態と疾患活動性は関連がなかった。以上より, Tr1減弱・Th17増強がPBCの病態形成に関わる可能性が示された。自己免疫性肝炎 (AIH) についても検討中である。

共同研究者

高橋 宏樹 東京慈恵会医科大学 内科学講座
消化器・肝臓内科 講師

A. 研究目的

自己免疫性肝疾患の発症・進展機序は明らかでない。近年, 自己免疫疾患発症へのFoxP3陽性CD4細胞 (Treg), IL-10産生性CD4細胞 (Tr1) 異常の関与が示され, 補体制御分子CD46によるTr1からのIL-10産生増強も明らかにされた。これまでに自己免疫性肝疾患のTreg動態は研究されているがTr1動態は検討されていない。

一方, 新たなCD4細胞サブセットTh17の自己免疫疾患病態形成への関与が注目されているが自己免疫性肝疾患でのTh17動態は不明である。

そこで本研究では自己免疫性肝疾患におけるTr1, Th17動態を解析し, 病態との関連を検討した。

B. 研究方法

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) 症例18例, 健常人19例の末梢血単核球からMACSを用いネガティブセレクション法によりCD4細胞を分離, 10^5 cell/100 μ lに調整し抗CD3抗体 (10mg/ml) 存在下で抗CD28抗体 (10mg/ml) またはリガンド活性を有する抗CD46抗体 (5mg/ml) とヒトrIL-2 (50IU/ml) を添加し72時間培養後に上清中IL-10濃度をELISAで測定した。

一方, 10^5 cell/100 μ lに調整したCD4細胞を抗CD3抗体 (5mg/ml), CD28抗体 (1mg/ml) 存在下でヒトrIL-12 (1ng/ml) またはヒトrIL-23 (50ng/ml) 添加し72時間培養し, 上清中IL-17濃度をELISAで測定した。

C. 研究結果

PBC症例CD4細胞のCD46抗体刺激によるIL-10産生量は健常人に比し有意に低値だったが (3641.9 ± 1465.5 vs 5167.1 ± 1419.2 pg/ml, $P < 0.05$), CD28抗体刺激によるIL-10産生量は健常人と有意差はなく, IL-10産生量と臨床検査値 (AST, ALT, ALP, γ -GTP, IgM) に有意の相関はなかった。

一方, PBC症例CD4細胞のrIL-23刺激によるIL-17

産生量は健常人に比し有意に高値だったが (1969.6 ± 1336.5 vs 1270.9 ± 595.5 pg/ml, $P < 0.05$), rIL-12刺激によるIL-17産生量は健常人と有意差はなく, IL-17産生量と臨床検査値 (AST, ALT, ALP, γ -GTP, IgM) には有意の相関はなかった。

また, PBC症例のCD46抗体刺激によるIL-10産生量とrIL-23刺激によるIL-17産生量には相関がなかった ($r = 0.21$)。

D. 考察

自己免疫性肝疾患の発症・進展には, 制御性T細胞群による自己免疫反応の制御, エフェクターT細胞群による自己免疫性肝障害の双方がともに関わり, その作用のバランスにより病態が規定されると考えられる。制御性T細胞には, 自然発生的に存在するCD25・FoxP3陽性Treg, 免疫反応により誘導されてくるIL-10を産生するTr1の2種類があり, 自己免疫性疾患においては, 前者は発症時の病態に, 後者は発症後の病態に関わる可能性がある。今回の検討により, CD4細胞からのIL-10産生を増強するCD46刺激によるIL-10産生が, 健常人に比し発症後のPBC症例において有意に低いことが示され, 自己免疫反応の制御に関わるIL-10産生Tr1の低下が病態形成に関与する可能性が示された。しかし, Tr1の動態と血中ALP, γ -GTP, IgM値との有意な相関は認めず, Tr1が疾患活動性を規定する可能性については否定的であった。

一方, 慢性的な自己免疫反応を増強する新たなエフェクター細胞としてIL-17を産生するTh17が同定され, その自己免疫疾患の病態形成への関与が注目されている。今回の検討により, Th17増殖, IL-17産生の増強作用を有するIL-23刺激によるCD4細胞のIL-17産生が, 健常人に比し慢性期PBC症例において有意に高いことが示され, 慢性的な自己免疫反応の維持に関わるTh17の増強が病態形成に関与する可能性が示された。しかし, Th17の動態と血中ALP, γ -GTP, IgM値との有意な相関は認めず, Th17が疾患活動性を規定する可能性についてはTr1と同様に否定的であった。

また, 制御性T細胞とエフェクターT細胞は相互に影響を及ぼしあい病態形成に関わると考えられるが, 今回の検討ではTr1 (CD4細胞のIL-10産生) とTh17

(CD4細胞のIL-17産生) の間に有意な相関は認めず、制御性T細胞に関しては自然発生的に存在するCD25・FoxP3陽性TregやNKT細胞、エフェクターT細胞に関しては抗原特異的CTLの動態も含めた包括的な解析を行う必要性があると考えられた。

E. 結 論

PBC症例のCD4細胞は健常人に比しTr1刺激によるIL-10産生が有意に低く、Th17刺激によるIL-17産生が有意に高いことが明らかになり、こうした免疫動態変化が病態形成に関与してい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

- 1) 高橋宏樹, 中野真範, 佐伯千里, 他: 原発性胆汁性肝硬変症におけるIL-10産生性Tr1およびTh17の動態の解析. 第44回日本肝臓学会総会, 松山, 2008.

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遺伝子多型と病態および臨床応用に関する検討

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：自己免疫性肝炎患者（AIH）における遺伝子多型をその病因解明と臨床応用可能な因子探索のために解析し検討を加えた。CD45は白血球表面抗原であり、欧米の報告ではAIH症例にはC77Gの遺伝子多型を有する率が高いことが報告されている。一方A138Gはアジア人に多く検出する多型であるが甲状腺炎例においてその頻度が低いことが知られている。そこで日本人AIH例についてCD45の遺伝子多型を解析した。C77G多型は検討した251例において1例も検出されなかった。A138Gについては、G138C（ホモ）の頻度がAIHで低率であったが、有意差を認めず、AIHと正常健常人に差異を認めなかった。

共同研究者

田守 昭博 大阪市立大学肝胆膵病態内科 准教授
河田 則文 大阪市立大学肝胆膵病態内科 教授
筒井ひろ子 兵庫医科大学病原微生物学 教授

ことを明らかにした（表1）。C77G多型は免疫の賦活にA138G多型は免疫の抑制方向に働くことと推定されている。今回、我々は日本人のAIHにおけるCD45の遺伝子多型について検討を行った。

A. 研究目的

自己免疫性肝炎（AIH）の病因は未だ特定されていない。近年患者の遺伝的背景と病因との関係を解析する研究が進んでいる。そこで今回、我々はAIH例における病因解明と治療法の決定に応用可能な因子探索のために遺伝子多型を解析し検討を加えた。AIHの病因としてのCD45遺伝子多型に関する検討を行った。CD45はマウスやヒトにおいて造血細胞の有用なマーカーであり、その機能として、リン酸化チロシンの脱リン酸化酵素活性を有し、Src型チロシンキナーゼの調節因子として重要な役割を担っている。T細胞やB細胞の分化、抗原受容体からのシグナル伝達の調節感染、炎症におけるマクロファージや顆粒球などの活性調節に関係している。CD45の細胞外部部位の変異や欠失が、ヒトにおいて、重篤な免疫不全や感染抵抗性の低下などを引き起こし、たとえばExon13の変異でCD45が欠損するとSCID状態になる。

Mannsらは、CD45のExon4 C77Gの多型を検討し、AIHにC77Gタイプが多いことを報告している（Genes Immun. 2003）。

表1 日本人におけるCD45遺伝子多型（A138G）の頻度

疾患 (例数)	Control (176)	橋本病 (126)	Graves病 (175)
A138A	111	76	144
A138G (allele頻度)	56 (23.7%)	50 (19.8%)	31 (9%)
G138G	9	0	0

我々は、すでに自己免疫性疾患である橋本病やGraves病においてCD45の多型を検討し、A138Gタイプが健常人や橋本病に比べGraves病では低頻度である

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64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）85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。CD45遺伝子についてはExon4 C77GとExon6 A138Gについてアレル特異的PCRおよびPCR-RFLP法を用いて解析した。

（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および兵庫医科大学の倫理委員会の承認を得て実施した。対象となったヒトへは本研究の目的、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

CD45 C77G多型はAIH58例を含む218例中には検出されなかった（表2）。CD45 A138G多型はコントロールにおいてAA, AG, GG; 111, 56, 9例存在しAIHではAA, AG, GG; 37, 20, 1例であった（表3）。GGタイプの多型がAIHにおいて低率であるが有意差はなく、CD45の多型と本疾患の関連性は認められなかった。

表2 日本人AIHにおけるCD45遺伝子多型（C77G）の頻度

	Control	AIH	PBC
Patient (n)	176	40	35
C77 (%)	176 (100%)	40 (100%)	35 (100%)
C77G (%)	0	0	0
77G (%)	0	0	0

表3 日本人AIHにおけるCD45遺伝子多型 (A138G) の頻度

	Control	AIH	PBC
Patient (n)	176	58	84
A138A (%)	111 (63%)	37 (64%)	44 (52%)
A138G (%)	56 (32%)	20 (34%)	36 (43%)
G138G (%)	9 (5%)	1 (2%)	4 (5%)
Allele Frequency (%)	23.5%	18.9%	26.2%

D. 考 察

CD45は、脱リン酸化酵素活性を有しSrc型チロシンキナーゼの調節因子として重要である。これまでの報告では免疫過剰反応や易感染性との関係を示す多型C77Gとその反対に免疫過剰を抑制する多型A138Gが存在する。欧米のAIHではC77G多型頻度が多く検出されたとの報告があるが、日本人ではAIHを含めて対象例すべてにおいてC77G多型は検出しなかった。一方、A138G多型についても疾患群毎の検出頻度に有意の差異を認めず、CD45の多型とAIHの病因との関連性は明らかにできなかった。G138Gタイプの多型ではCD45のスプライシングに影響を与えることが明らかにされているが、AIHでは健常人やPBCに比べ低頻度である。今回、AIHの検討症例数は58例であり、CD45の多型との関連性を性格に評価するには症例数が不足していると考えられた。

E. 結 論

AIHの病因を明らかにするためにCD45の遺伝子多型を解析したが、疾患の特異性を示す成績を得ることはできなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 投稿中
2. 学会発表
 - 1) 新寄真弓, 田守昭博, 林建博, 他: 日本人自己免疫性肝疾患に対するアザチオプリン治療の問題点. 第43回日本肝臓学会総会, 東京, 2007.

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

自己免疫性肝炎におけるTreg及びTh17の動態

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：今回我々は自己免疫性肝炎患者の肝生検標本を用いて、IL-17の免疫染色を行い、肝組織中のTh17細胞の動態を観察、Tregの動態と比較、検討した。自己免疫性肝炎患者の肝組織中にTh17細胞が多数認められる症例は少なかったが、acute-onset typeの自己免疫性肝炎ではその浸潤が多い例が認められた。また、Th17細胞数とTreg数の比（IL-17+/FOXP3+）はacute-onset typeではchronic typeと比較して大きい傾向にあり、自己免疫性肝炎の発症に、Tregの誘導低下と併せてTh17細胞の誘導が関与している可能性が考えられた。

共同研究者

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

A. 研究目的

自己免疫性肝炎（以下 AIH）は、その成因から病態に至るまで、未だ解明されていない部分が多い。昨年、我々は AIHにおけるregulatory T cells（以下Treg）の動態を肝生検組織のFOXP3免疫組織染色を施行し検討した。その結果、Tregは炎症細胞浸潤が強い部位に多く存在し、さらに急性発症型症例で比較的多いことを報告した。このことから、Tregの発現低下がAIHの発症に関与しているのではと推測した。

最近発見、提唱された Tヘルパー細胞の一つであるTh17細胞は、多くの自己免疫性疾患に関与していることが報告されてきている。AIHでもTregの低下に加えて、この自己免疫や炎症を惹起するTh17細胞の増加が関与している可能性がある。

そこで、今回我々はAIH患者の肝生検標本を用いて、IL-17の免疫染色を行い、肝組織中のTh17細胞の動態を観察、Tregの動態と比較、検討することを目的とした。

B. 研究方法

AIHの肝生検組織標本26検体をanti-human IL17（AF-317-NA; R&D systems）で免疫組織染色を施行した。鏡検にて1視野あたりの陽性細胞数を計測した。これらの陽性細胞数を以下のAIHの病態と比較検討した（①門脈域か小葉内かの部位、②炎症の程度、③血清ALT値、④血清IgG値、⑤acute onset typeかchronic typeかの発症型式による相違）。さらに、連続切片をanti-FOXP3（PCH101; eBioscience）で染色し、その陽性細胞数を計測し、IL-17陽性細胞数と比較、検討した。

C. 研究結果

1. このanti-human IL-17抗体を用いて、パラフィン切片においてIL-17免疫組織染色が可能であった。

さらに、AIH肝生検組織中のIL-17陽性細胞は比較的少なかった。

- IL-17陽性細胞数と部位、炎症の程度、血清ALT値、血清IgG値との相関は認められなかった。Acute-onset typeではchronic typeと比較してIL-17陽性細胞数が多かったが、その相違は有意ではなかった。しかし、亜急性型で生体肝移植を要した症例では、著明な IL-17 陽性細胞数の増加を認めた。
- IL-17陽性細胞数とFOXP3陽性細胞数を比較した時、その比（IL-17+/FOXP3+）はacute-onset typeではchronic typeと比較して大きい傾向にあった。

D. 考 察

Th17細胞は、細菌感染や真菌感染に対する宿主の免疫応答を増強するだけでなく、自己免疫性疾患の病態を惹起する因子として注目されてきている¹⁾。マウスのautoimmune arthritisではIL-17が軟骨や骨の破壊に直接関与していること²⁾、experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)でも、IL-17がその発症に関与することが報告されている。さらに、IL-17deficient mouseでは、この発症が遅延し、症状も軽減する³⁾。さらに、IL-17 blocking antibodyの投与はEAEの進展を抑制したとの報告が続いている⁴⁾。一方で、ヒトでも多発性硬化症⁵⁾、関節リウマチ⁶⁾、乾癬⁷⁾等でIL-17の発現が増加しているとの報告もある。

AIHも成因こそ不明であるが、自己抗体陽性、血清IgG高値、ステロイド治療への反応性等から、自己免疫機序の関与が考えられている。そこで、AIHにおいてもTh17細胞がその病態に関与している可能性が十分考えられるが、残念ながらAIHとTh17細胞の関係についての報告は今までにない。おそらく、AIHが比較的稀な疾患であること、またその対応抗原が同定されていないことから、動物モデルでの実験系が確立されていないことも影響しているのであろう。

今回、我々はAIHと診断された肝生検標本を用いて、IL-17の免疫組織染色を行った。IL-17陽性細胞は、我々の予想していた程は肝組織中に認められなかった。しかし、acute-onset typeの症例では、比較的多数のIL-17陽性細胞が認められている症例があり、AIHの発症

に關与している可能性は考えられる。Tregは反対に acute-onsetの症例で少なかったことから、IL-17陽性細胞数とFOXP3陽性細胞数を比較検討すると、acute-onset typeでは、chronic typeに比べて、IL-17陽性細胞とFOXP3陽性細胞の比 (IL-17+/FOXP3+) は大きい傾向にあった (acute-onset 1.1 ± 2.6 , chronic 0.2 ± 0.3 , $p=0.09$)。この比、すなわち、炎症を惹起する細胞群 (Th17) と過剰の炎症を抑制する細胞群 (Treg) の比がacute-onset typeのAIH症例で大きかったことから、AIHの発症、重症化にこの両者がともに關与している可能性が考えられた。

今後、Th17細胞が本当にAIHに關与しているかは、末梢血単核球を用いた検討やC型慢性肝炎をはじめとする他の肝疾患との比較検討を必要とすると考えられる。

E. 結 論

肝組織中のTh17細胞浸潤は、Tregの浸潤低下とあわせて、自己免疫性肝炎の発症に關与している可能性が考えられた。しかし、Th17細胞と自己免疫性肝炎の關係については、さらなる検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

- 1) 海老沼浩利, Chang Kyong-Mi, 多田慎一郎, 他: C型慢性肝炎におけるregulatory T cellの動態とHCV-specific regulatory T cellの誘導. 第43回日本肝臓学会総会, 東京, 2007.
- 2) 海老沼浩利, 多田慎一郎, 尾城啓輔, 他: 自己免疫性肝炎における肝組織中regulatory T cellの役割. 第11回日本肝臓学会大会, 神戸, 2007.

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) Korn T, Oukka M, Bettelli E: Th17 cells: Effector T cells with inflammatory properties. *Semin Immunol*, 2007. [Epub ahead of print]
- 2) Sato K, Suematsu A, Okamoto K, et al: Th 17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med* 203: 2673-2682, 2006.
- 3) Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, et al: IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 177: 566-573, 2006.
- 4) Hofstetter HH, Ibrahim SM, Koczan D, et al:

Therapeutic efficacy of IL-17 neutralization in murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *Cell Immunol* 237: 123-30, 2005.

- 5) Lock C, Hermans G, Pedotti R, et al: Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med* 8: 500-508, 2002.
- 6) Aarvak T, Chabaud M, Miossec P, et al: IL-17 is produced by some proinflammatory Th1/Th0 cells but not by Th2 cells. *J Immunol* 162: 1246-1251, 1999.
- 7) Teunissen MB, Koomen CW, de Waal Malefyt R, et al: Interleukin-17 and interferon-gamma synergize in the enhancement of proinflammatory cytokine production by human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 111: 645-649, 1998.

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免疫応答関連遺伝子のDNA多型の解析

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や病態と免疫応答関連遺伝子のDNA多型との関連を検討するため、制御性T細胞のマスター制御遺伝子であるFoxP3遺伝子と腫瘍・炎症に関与するCOX-2遺伝子を用いDNA多型の解析を行った。患者末梢血よりDNAを抽出後、プライマーの設定を行い、PCRでDNA断片を増幅しフラグメント解析を行った。FoxP3遺伝子の多型と自己免疫性肝炎の関連は認めなかった。しかし、自己免疫性肝炎と原発性胆汁性肝硬変はウイルス肝炎（B型、C型肝炎）と比べCOX-2の多型の-1265Gが有意に多く認められ、その発症、進展にプロスタグランジンが異なった機序で関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

CD4⁺CD25⁺制御性T細胞は、末梢の自己免疫寛容に関わり、自己免疫性肝炎（AIH）やウイルス性肝炎の関与が想定されている。COX-2はアラキドン酸からプロスタグランジンを合成する酵素であり、炎症巣でのプロスタグランジン産生に関わり、様々な成長因子やサイトカイン、発癌因子により誘導され、腫瘍血管増生や血管新生の促進、アポトーシスの阻害、腫瘍細胞の転移や浸潤の促進、T細胞応答の抑制にかかわる。今研究は、制御性T細胞のマスター制御遺伝子であるFoxP3遺伝子とCOX-2遺伝子のDNA多型を解析し、自己免疫性肝炎との関わりを検討することである。

B. 研究方法

末梢血〔AIH 45例、PBC 57例、HCV 103例、HBV 32例、Control 37例〕からDNAを抽出後、多型の近傍に蛍光標識プライマーを設定し、PCRで多型を含むDNA断片を増幅した。DNA断片をDNAシーケンサーを用いてフラグメント解析し、各種DNA多型と対象の統計解析を行った。

C. 研究結果

FoxP3のDNA多型と各肝疾患との関連は認めなかった。COX-2（-1265G）のalleleがウイルス性肝疾患と比べ自己免疫性肝疾患に有意に多く認められた（ $p=0.001$ ）。また、-1265Gは自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変がC型肝炎に比べて有意に多く（AIH vs HCV : $p=0.003$, PBC vs HCV : $p=0.002$ ）、B型肝炎に比べ多い傾向であった（AIH vs HCV : $p=0.068$, PBC vs HCV : $p=0.061$ ）。COX-2（-899A/G）のalleleと各肝疾患との関連は認めなかった。

D. 考察

-1265A/Gの多型で転写因子であるC/EBP α の結合が変わることからCOX-2の発現にも影響することが考えられる。自己免疫性肝疾患とウイルス性肝疾患でCOX-2のDNA多型（-1265A/G）に有意差があり、その発症、進展へのプロスタグランジンの異なった機序による関与が想定される。

E. 結論

自己免疫性肝疾患とウイルス性肝疾患の発症、進展にプロスタグランジンが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

- 1) Sakaki M, Hiroishi K, Baba T, et al : Intrahepatic status of regulatory T cells in autoimmune liver diseases and chronic viral hepatitis. *Hepatology* 38 : 354-361, 2008.

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

多変量モデルによる自己免疫性肝炎診断の検証研究

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：全国調査で収集されたウイルス性、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の症例の内、主治医診断と肝病理専門家の診断の一致を自己免疫性肝炎（AIH）診断ゴールドスタンダードとした212例を対象として、多変量ロジスティックモデルの診断能を解析した結果、血清ALP/正常上限値比、血清ALT値、抗ミトコンドリア抗体、肝生検組織における胆管障害、胆管消失、ロゼット形成、小葉性肝炎からなる7因子ロジスティックモデルは、IAIHGスコアシステムと同等の診断能を有することが示され、病理所見を除いた3因子モデルも7因子モデルと比べ、ROC AUCに有意差を認めなかった。本年度は、新規症例（自己免疫性肝炎72例、原発性胆汁性肝硬変47例、原発性硬化性胆管炎1例、AIH-PBC overlap 4例）を対象として、検証研究を行うとともに、ロジスティックモデルの係数により重み付けしたスコア加算システムの診断能を解析した。その結果、AIHの疾患確率 ≥ 0.5 で診断すると、7因子モデルの場合、AUC 0.96187（95%信頼区間0.922-1.00）、感度0.907（95%CI 0.83-0.98）、特異度0.917（95%CI 0.81-1.0）、3因子モデルの場合、AUC 0.92561（95%信頼区間0.879-0.972）、感度0.861（95%CL 0.78-0.94）、特異度0.902（95%CI 0.82-0.98）でいずれも高い診断能を示し、全国調査の場合と同様の結果を得た。さらに、スコア加算システムによるAUCは疾患確率によるAUCと同じで、感度・特異度はまったく同じであった。ウイルス性肝炎などが除外され、AIHと原発性胆汁性肝硬変が疑われる場合の、診断法としてスコア加算システムは有用と考えられる。

共同研究者

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

A. 研究目的

全国調査¹⁾で収集されたウイルス性、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の症例の内、主治医診断と肝病理専門家の診断の一致を自己免疫性肝炎（AIH）診断ゴールドスタンダードとした212例を対象として、多変量ロジスティックモデルの診断能を解析した結果、血清ALP/正常上限値比、血清ALT値、抗ミトコンドリア抗体、肝生検組織における胆管障害、胆管消失、ロゼット形成、小葉性肝炎からなる7因子ロジスティックモデルは、IAIHGスコアシステムと同等の診断能を有することが示され、病理所見を除いた3因子モデルも7因子モデルと比べ、Receiver operating characteristic (ROC) 解析によるArea under the curve (AUC) に有意差を認めなかった。

これらモデルの元になった症例に適用した場合には、適合度が高いため、通常診断能の指標も高い値となる。したがって、その有用性を証明するために、新規症例による検証研究が必要である。今回、AIH、原発性胆汁性肝硬変（Primary biliary cirrhosis, PBC）を中心としたそのほかの肝疾患の新規症例においてこれらモデルの診断能を明らかにするとともに、ロジスティックモデルの係数に基づいたより単純なスコア加算システムについてもその診断能を明らかにした。

B. 研究方法

慶應義塾大学病院に通院中の自己免疫性肝炎72例、原発性胆汁性肝硬変47例、原発性硬化性胆管炎1例、AIH-PBC overlap 4を対象とした。これら疾患の最終診断は治療応答、経過観察も含めたもので、それを診断のReferenceとした。

3因子モデルは、表1に示す項目と係数により、式1-1、さらに式1-2でAIHの疾患確率P(AIH)を算出した。

表1 3因子モデル

項目	値	X_i	係数 b_i
1. ALP/基準値上限	<1.3	+1	1.20213582
	≥ 1.3	-1	
2. ALT	≥ 120	+1	1.83947487
	<120	-1	
3. AMA	<20倍	+1	1.72945375
	≥ 20 倍	-1	

$$\text{式 1-1: } Y = -0.5839365 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3$$

$$\text{式 1-2: } P(\text{AIH}) = 1/[1 + \exp(-Y)]$$

7因子モデルは、表2に示す、項目と係数により、式2-1、さらに式2-2によりP(AIH)を算出した。

表2 7因子モデル

項目	値	X_i	係数 b_i
1. ALP/基準値上限	<1.3	+1	4.64507
	≥1.3	-1	947
2. ALT	≥120	+1	3.94281
	<120	-1	863
3. AMA	<20倍	+1	3.48829
	≥20倍	-1	853
4. 胆管障害	軽度以下	+1	4.73156
	中等度以上	-1	635
5. 胆管消失	なし	+1	3.32347
	あり	-1	281
6. ロゼット形成	あり	+1	2.22395
	なし	-1	846
7. 小葉性肝炎	中等度以上あり	+1	3.27471
	なし	-1	466

式 2-1: $Y = -23174979 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_5X_5 + b_6X_6 + b_7X_7$
 式 2-2: $P(AIH) = 1/[1 + \exp(-Y)]$

さらに、単純化したスコア加算システムとして、上記ロジスティックモデルの係数を四捨五入した値を各項目のスコアとした。すなわち、各項目で、値が各セルの上の条件に合致する場合は、スコアを加算し、合致しない場合は0を加算、すなわちスコアを加算しないで、総スコアを算出する。3因子モデルの場合のスコアを表3、7因子モデルの場合のスコアを表4に示す。すべての項目が該当する場合、3因子モデルで5、7因子モデルで25となり、最小値はいずれも0となる。

表3 3因子モデルの場合のスコア

項目	値	スコア
1. ALP/基準値上限	<1.3	+5
	≥1.3	0
2. ALT	≥120	+4
	<120	0
3. AMA	<20倍	+3
	≥20倍	0
4. 胆管障害	軽度以下	+5
	中等度以上	0
5. 胆管消失	なし	+3
	あり	0
6. ロゼット形成	あり	+2
	なし	0
7. 小葉性肝炎	中等度以上あり	+3
	なし	0

表4 7因子モデルの場合のスコア

項目	値	スコア
1. ALP/基準値上限	<1.3	+1
	≥1.3	0
2. ALT	≥120	+2
	<120	0
3. AMA	<20倍	+2
	≥20倍	0

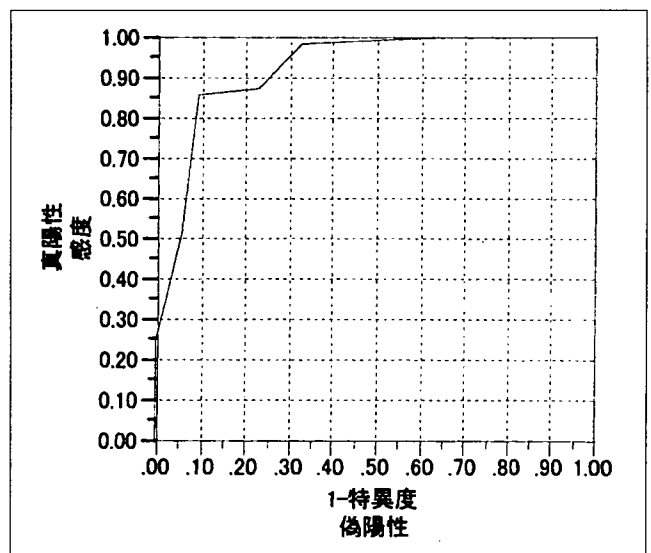
なお、抗ミトコンドリア抗体 (Anti-mitochondrial antibody, AMA) の測定はELISA法による抗M2抗体測定を用い7以上を陽性とした。また、病理組織所見は、慶應義塾大学病院病理検査室の病理医の診断所見を用いた。

ROC解析はJMP-J (バージョン5.01) を用いて行い、AUCの95%信頼区間算出、2群間の比較は、Hanleyら²⁾の方法によった³⁾。

C. 研究結果

ロジスティックモデルは3因子の場合、124例全例の解析が可能で、AIH72例対非AIH52例 (PBC47例、PSC1例、AIH-PBC Overlap4例) のP(AIH)を変数としたROC解析の結果、AUC0.92561 (95%信頼区間0.879-0.972)、カットオフ値0.5とした場合の感度0.861 (95%CI0.78-0.94)、特異度0.902 (95%CI 0.82-0.98)であった (図1)。同じく、7因子の場合は、肝生検所見の得られたAIH54例対非AIH24例 (PBC 21例、PSC 1例、AIH-PBC Overlap 2例) で解析可能で、ROC解析の結果、AUC0.96187 (95%信頼区間0.922-1.00) であり、感度0.907 (95%CI0.83-0.98)、特異

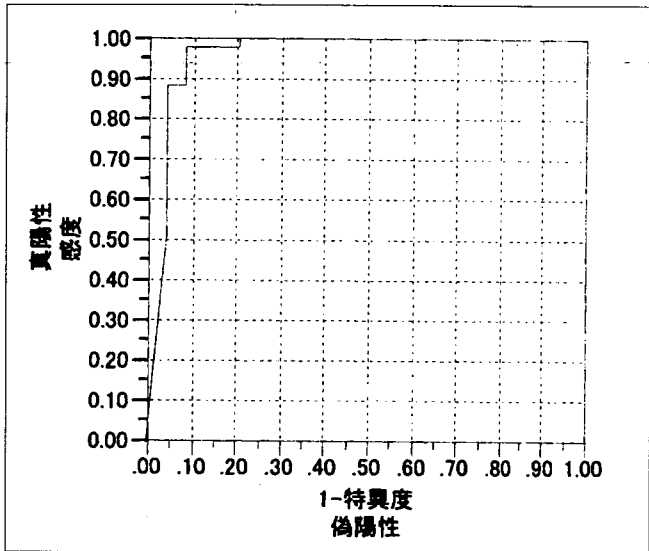
図1 3因子ロジスティックモデルのROC解析



AUC0.92561 (95%信頼区間 0.879-0.972)、カットオフ値0.5とした場合の感度0.861 (95%CI 0.78-0.94)、特異度0.902 (95%CI 0.82-0.98)

度0.917 (95%CI0.81-1.0)となった(図2)。全国調査例を対象とした場合、3因子モデルがAUC0.9550 (95%CI0.9217~0.9883)、7因子モデルがAUC0.9809 (95%CI0.9591~1.0027)であったが、これらと有意差を認めなかった。また、今回の3因子モデルと7因子モデルのAUCを比較すると $P=0.355$ となり、有意差は認められなかった。

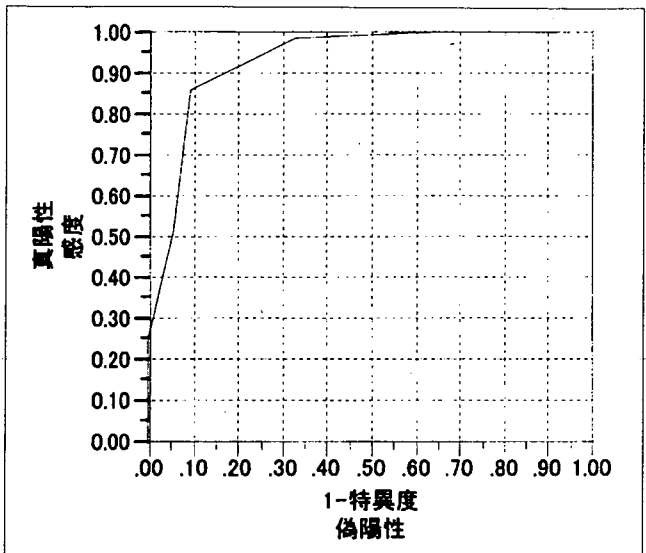
図2 7因子ロジスティックモデルのROC解析



AUC0.96187 (95%信頼区間0.922-1.00), カットオフ値0.5とした場合の感度0.907 (95%CI 0.83-0.98), 特異度0.917 (95%CI 0.81-1.0)。なお解析対象は、AIH54例対非AIH24例 (PBC21例, PSC1例, AIHPBC Overlap2例) である。

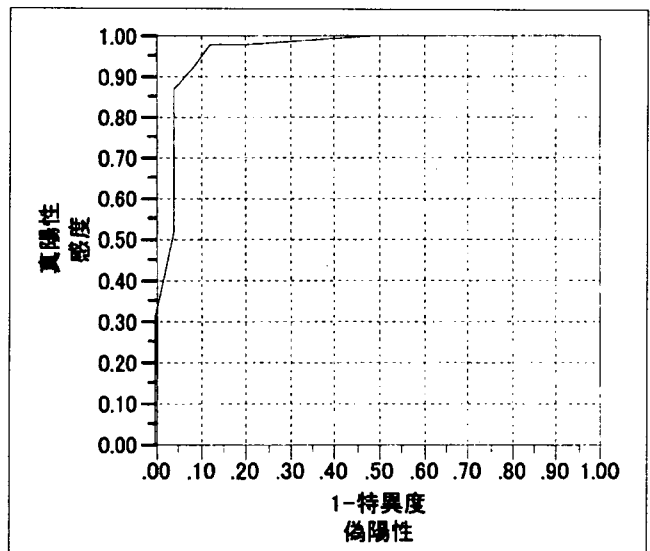
さらに、3因子スコア加算システムでは、AUC0.93243 (95%信頼区間0.888-0.977)であり、総スコア ≥ 3 でAIHと診断することが可能で、感度0.861, 特異度0.902で、ロジスティックモデルで疾患確率を用いる場合と同じ結果が得られた(図3)。7因子スコア加算システムでは、AUC0.96528(95%信頼区間0.928-1.00)であり、総スコア ≥ 6 でAIHと診断することが可能で、感度0.907, 特異度0.917と、これもロジスティックモデルで疾患確率を用いる場合と同じ結果が得られた(図4)。

図3 3因子スコア加算モデルのROC解析



AUC0.93243 (95%信頼区間0.888-0.977), 総スコア ≥ 3 でAIHと診断した場合、感度0.861, 特異度 0.902。

図4 7因子スコア加算モデルのROC解析



AUC0.96528 (95%信頼区間0.928-1.00), 総スコア ≥ 6 でAIHと診断した場合、感度0.907, 特異度0.917。

D. 考 察

血清ALT値, 血清ALP/正常上限値比, 抗ミトコンドリア抗体, 肝生検組織における胆管障害, 胆管消失, 小葉性肝炎, ロゼット形成からなる7因子ロジスティックモデルおよび病理所見を除いた3因子ロジスティックモデルを新規症例に適用した場合, 元の症例の場合と同じく, 高い診断能が示された。さらに, ロジスティックモデルの係数に基づく, 単純化したスコア加算システムは, ロジスティックモデルにより疾患確率を求める方法とまったく同じ診断能を示した。

ROC解析の結果は, 変数の分布の影響を受けない。そのため, 疾患確率でもスコア加算システムの総スコアでもまったく同じ結果が出ると考えられる。疾患確率の計算は, 複雑で, 日常診療でルーチンに行うため

には、パーソナルコンピュータと表計算ソフトウェアなどが必要となる。一方、スコア加算システムは、1桁の数値の足し算だけで、総スコアを求め、それにより診断ができるので、簡便である。

たとえば、肝炎ウイルスマーカーが陰性で、アルコール多飲がなく、薬剤の服用歴がなく、胆石など胆道系の疾患や腫瘍性疾患が画像検査などで除外され、自己免疫性肝疾患、すなわち、AIHまたはPBC、PSCが疑われる患者で、血清ALPが正常上限値の1.1倍、血清ALTが150IU/l、抗ミトコンドリア抗体陰性の場合、スコアはそれぞれ1、2、2で総スコア5となる。3以上なのでAIHが示唆される。たとえば、これら3因子の検査を施行する前の時点で、問診、診察所見などから、AIHの疾患確率を0.6と想定していたとすると、感度0.861、特異度0.902なので、事後確率は $0.6 \times 0.861 / [0.6 \times 0.861 + (1-0.6) \times (1-0.902)] = 0.930$ となり、AIHと診断することが妥当となる。このように、事前確率を設定して、事後確率を求めるのが適切な方法であり、スコアが3以上の場合、すべてAIHとするのは適切な方法ではない。もし、スコア3以上をすべて、AIHと診断する場合には、事前確率を0.5に設定していることに相当するので、それを十分認識して判断する必要がある。もし、事前確率が同じ0.6であっても、総スコアが2であれば、事後確率は0.188に低下する。

別の例として、血清ALPが正常上限値の1.5倍、血清ALTが250IU/l、抗ミトコンドリア抗体陽性の場合、スコアはそれぞれ0、2、0で総スコア2となり、AIHは否定的である。今回の検討では、PBCの側からみた解析をしていないが、対象となった疾患のほとんどがPBCであるため、AIHが否定された場合、PBCの可能性が高いといえる。さらに、肝生検が行われて、胆管障害が中等度以上あり、胆管消失があり、ロゼット形成がなく、小葉性肝炎が軽度であったとすると、スコアは血液検査も含めてそれぞれ0、4、0、0、0、0、0で総スコア4となる。7因子モデルでは総スコア6以上でAIHと診断するので、このような結果が得られればAIHの可能性は否定的であるが、正確には、やはり事後確率を算出する必要がある。たとえば、AIHの事前確率を0.4と想定した場合、感度0.907、特異度0.917なので、事後確率は $0.4 \times (1-0.907) / [0.4 \times (1-0.907) + (1-0.4) \times 0.917] = 0.0633$ となる。したがって、ほぼ除外される。7因子モデルを用いる場合も、3因子モデルの場合と同じく、事前確率を設定し、事後確率を算出するのが適切な方法である。

今回の検討でも、また前回の全国調査の症例を対象にした検討したでも、3因子モデルと7因子モデルのAUCには有意差が認められなかった。しかし、これらの研究は探索的研究であり、同等性あるいは非劣性の仮説の元で行ったものではない。したがって、7因子モデルと3因子モデルの診断能が同等であるという結論を出すことには慎重でなければならない。

今後、スコア加算モデルの有用性について、さらに大きなサンプルサイズでの検討が望まれる。また、ウイルス性肝炎など、その他の肝疾患における偽陽性率

を明らかにすれば、他の肝疾患を含め3疾患以上の鑑別診断に適用可能となり、より有用性が高まると考えられる。

E. 結 論

検証研究によって、血清ALP/正常上限値比、血清ALT値、抗ミトコンドリア抗体、肝生検組織における胆管障害、胆管消失、ロゼット形成、小葉性肝炎の7因子あるいは病理所見を除いた3因子による、多変量ロジスティックモデルは自己免疫性肝炎の診断に有用である。さらに、ロジスティックモデルの係数に基づいたスコア加算システムはより簡便で、多変量ロジスティックモデルと同等の診断能を有している。

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 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) Zeniya M, Watanabe F, Morizane T, et al : Diagnosing clinical subsets of autoimmune liver diseases based on a multivariable model. J Gastroenterol 40 : 1148-1154, 2005.
- 2) Hanley JA, McNeil BJ : A method of comparing the area under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. Radiology 148 : 839-843, 1983.
- 3) 森實敏夫 : 入門医療統計学. 東京図書. 2004.

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

自己免疫性肝炎非定型例に対する治療の検討

研究協力者 鈴木 義之 虎の門病院 臨床検査部 副部長

研究要旨：自己免疫性肝炎（autoimmune hepatitis: AIH）に対する治療の第一選択は免疫抑制療法であり、副腎皮質ホルモンであるステロイド治療を行うことで組織学的に改善が得られ、長期予後の向上が望まれることに関しては異論のないところである。しかしながら、長期に亘る免疫抑制剤の使用は様々な副作用や合併症のriskを高め、患者のQOLも損ねていることは無視できない事実である。昨年度までに我々はその至適量を規定する指標や、中止可能症例の鑑別についての検討を行い報告してきた。その中で古典的AIH症例は中止後の再燃率が高く、一方経過の良好な症例は非定型例に多いという知見をえた。そこで、今年度は非定型例に焦点をしばりretrospectiveにその治療反応性につき検討した。その結果単年度のみで結論を出すのは困難でありまだ途上ではあるが、中止後1年間の再燃率は急性発症群で低く、PBCとのoverlap症例はUDCAを併用することでステロイドの漸減が可能であった。また、HCV陽性例についてのribavirin併用では、HCVの陰性化に伴い自己免疫現象も改善することから今後さらに症例数を増やし検討していく必要があると考えた。

A. 研究目的

AIHに対する免疫抑制療法の中止基準を設定するためには治療反応性の評価が必要となる。このため、昨年度までに、我々は自己免疫性肝炎として経過観察中であつた症例の肝組織を再度採取し、組織学的変化につき検討を行ってきた。その組織学的変化をもとに、治療反応性により免疫抑制剤の量が適正であつたかどうかを判断し、その量を決定するための肝生検以外のパラメーターについて報告し、幾つかの指標を設定し免疫抑制剤の中止し得る症例につき検討を行ってきた。その結果、古典的AIH症例においては治療中止が困難であり、中止により肝炎の再燃を招くことが多いことが明らかとなる一方で、非定型例においては中止可能な症例が存在することもわかってきた。そこで、今年度目標としたのは、非定型症例に対する治療の反応性を解析し、いかに有効な治療を行うかを検討することである。

B. 研究方法

対象は、2007年12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60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、42例につき複数回の肝生検を行いその組織学的変化を検討しており、改善、不変、悪化の三群に分けて以後の検討対象とした。

非定型例とした症例は、1) 急性発症症例11例。肝障害発症時肝酵素が250以上を呈し、その後の経過でAIHと診断された症例。2) AIH-PBC overlap症例18例。AIHscoreでprobable以上でかつ抗ミトコンドリアM2抗体陽性例をその範疇（詳細な検討では2例に限定されるが）とした。3) いわゆるC+AIH症例。当院では、80例以上が相当するが今回はribavirin併用療法を行った3例を検討した。

また、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。

C. 研究結果

- 1) 急性発症例においての検討では、慢性に経過しAIHと診断された41例に比べ、IgG値は低く、当初の組織学的検査でも診断がつかない症例が多く認められた。しかしこのような症例はPSLの治療反応性は良好であり、また中止後の再燃率も低かった。（再燃率：慢性経過群vs急性発症群71.4% vs 20%）
- 2) AIH-PBC overlap症例の検討では、血液学的に診断された18例の症例も組織学的検索を行うことで真のoverlap症例はわずかに2例となることが判明した。さらに血液学的にoverlapとされた症例にはPBCの疾患感受性遺伝子であるとされるDR8陽性例が多く含まれこのような症例に於いてはPSL+UDCAの併用療法が奏功し、PSLの減量が可能であった。
- 3) C+AIH症例については、AIHscoreが低くγグロブリンや抗核抗体の絶対値も低い症例はHCV関連肝疾患の要素が強いと考え、我々はこれまでにIFN治療を積極的に行い効果について報告してきた。今回は、最近の治療であるribavirin併用療法を行った3例につき検討を行った。3例の背景とその治療効果を表1に提示するが、genotype 2b症例のようにSVRがえられる症例もある反面、自己免疫現象を惹起し肝障害を悪化させてしまう症例もある。今後もさらに症例数を増やし、新たな治療方針の策定にむけた検討が必要と考える。

表1 C+AIH症例に対するribavirin併用療法の経過

CaseNo.	Age (yrs) Gender	Genotype HCVRNA load (KIU/ml)	IgG (mg/dl) ANA (X) AIH score	Previous -therapy	Therapy	Response
1	51 female	1b 1600	2049 320 +9	none	PEG-IFN α -2b+RBV →PSL+AZP+UDCA	中止
2	56 female	2b 990	1764 320 +8	PSL, AZP	IFN α -2b+RBL	SVR
3	53 female	1b 660	1930 80 +8	IFN α con →PSL	IFN α →IFN α -2b+RBV →+PSL	VR

D. 考 察

AIHの非定型例における治療反応性を検討した。これまでの我々の検討では免疫抑制療法を充分に行っている症例においては、組織学的改善が認められその予後は他の慢性肝疾患に比べ良好であると思われる。このような状況の中で、いかにPSLを漸減し、中止するかが長期にわたるQOLの向上に関与してくる。前述したように非定型例においては免疫抑制療法の漸減や中止が可能な症例が存在する。

昨年までの我々の検討では、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を示した。このことは、急性発症例においては発症期に高 γ グロブリン血症や抗核抗体などの免疫応答がまだ揃わないという現象からも推察できる。このような症例はPSLも奏功し、また中止後の再燃も少ないという結果から従来の自己免疫現象による肝細胞障害とは発症形式が異なっている可能性もある。

一方、AIH-PBC overlap症例やC+AIH症例においては治療の選択を行う際の基準が未だ明確ではなく結果論でしか検討ができていない。今後はさらに症例を積み重ね、可能であればprospectiveなstudyを行い新たな指針の策定に向けた検討を行なっていきたいと考えている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 鈴木義之：自己免疫性肝疾患. year note 2008 : 201-213, 2008.
- 2) 鈴木義之：自己免疫性肝炎の最近の話題. 治療学 42 : 55-60, 2008.

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

自己免疫性肝炎治療と肝組織所見の変化について—複数回生検所見の検討—

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）におけるステロイド（PSL）治療の初期投与量，維持量，いつ治療中止すべきかを決定する指標に乏しく，EBMが求められているのが現状である。今まで，私達は寛解期の肝生検組織標本で以後の肝炎再燃を含めた臨床経過を予測できるのかどうかを検討してきたが，寛解期肝組織所見より以後の再燃を予測することは困難であった。今回私達は治療初期と治療経過中に再度の肝生検のある29例を対象に，初期の肝生検所見と肝機能成績などから以後の肝炎再燃に關与する因子について統計的解析を行った。発症年齢は若年者ほど（40歳以下），肝組織所見上グ鞘炎は強いほど早期に再燃しやすかった。また，小葉炎は強いほど再燃しにくいという結果が得られた。急性肝炎様発症のAIHは再燃しにくいのかも含め，今後の検討を要すると考えられた。

研究協力者

中村 陽子 国立病院機構相模原病院 消化器科 医師
三富 弘之 国立病院機構相模原病院 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）は症例数が少なく，多施設での検討が必要である。私達は，多数の長期治療経過の詳細な経過観察が可能な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，複数回肝生検組織の解析を行った。発症初期の肝組織所見や病態を検討することにより，その後の早期肝炎再燃の要因を統計的に解析することとした。

B. 研究方法

対象と方法：国立病院機構肝疾患政策医療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治療中に再燃がなく，なおかつ寛解時期に再度の肝生検のある14例（A群）と，再燃時に再生検のある15例（B群）の2群を対象とした。今回，寛解とはALT値が基準値内（35IU/l以下）を保っている状態とし，再燃とは基準値の2倍以上と定義した。

肝組織所見の分類は，国立長崎医療センターに準じて線維化，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の方の度合いが強い）の5段階評価で病理医，臨床医5名の総合評価で行い，平均値を計算した。

初期の肝生検から再燃がなく寛解期に再度の肝生検のある14例（A群）は再度の肝生検時期を打ち切りとした。再燃時に再生検のある15例（B群）もあわせて，早期再燃に何が影響するかをCox比例ハザードモデルを用いて解析した（SPSS Ver.13.0）。解析因子としては，初診時年齢，肝炎既往の有無，初期PSL投与量，初回肝組織所見，その時点のALT値，T.Bil値，IgG値，ANAの高低，再燃までの期間（A群では再生検時期で

の打ち切りとしての期間），解析した期間内でのPSL治療中止の有無を検討した。

C. 研究結果

1) 対象29例の背景因子

初診時年齢 56.1 ± 13.3 歳，男女比3対26，肝炎既往の有無16対10（不明3例）。初期PSL投与量は，30mg以下8例，40mg12例，60mg9例であった。初回肝生検時のALT値 714.8 ± 503.3 IU/l，T.Bil値 6.6 ± 8.4 mg/dl，IgG値は 2737.1 ± 1009.3 mg/dlであり，ANA16例で陽性であった。再燃までの期間（A群では再生検時期での打ち切り例としての期間）は 29.7 ± 27.8 ヶ月，対象期間内でPSLを中止している症例は3例のみで，いずれもB群の症例であった。

2) 寛解例，再発例

早期再燃をきたす因子を検討するために，初期の肝生検から再燃がなく寛解期に再度の肝生検のある寛解14例（A群）と，再燃時に再生検のある再燃15例（B群）とを分けて表示した（表1）。発症時平均年齢は，A群62.0歳，B群50.6歳で両群に有意差を認めた。IgG値がA群で2291mg/dl，B群で3151mg/dlと，後者は有意に高値であった。その他では両群間の背景因子に相違はなかった。A群は再生検時を打ち切りとして解析したが，両群間の対象期間に有意差は認めなかった。

図1及び図2に初回肝組織所見と再度の肝組織所見の変化を提示した。A群は，寛解期の肝生検組織のグ鞘炎，Interface hepatitis，小葉炎は認めないかあってもごく軽微で，初回肝組織所見からの変化は急勾配で示され，線維化も右下がり改善しているものが多い（図1）。他方，B群での変化は緩やかであり，線維化では悪化している症例も少なくない（図2）。図3でA群，B群における治療前後での肝組織変化を棒グラフに示した。A群では線維化（1%水準），グ鞘炎，Interface hepatitis，小葉炎（いずれも0.1%水準）のすべてで有意に改善したが，B群では線維化の改善に有意差はなく，グ鞘炎（0.1%

水準), Interface hepatitisと小葉炎の両因子は1%水準でしか改善を示していない。

3) 初期肝生検時の所見から以後の肝炎再燃に関する因子の解析 (表2)

初回肝生検組織各因子について相互の相関係数 (Spearman) を求めたところ, グ鞘炎とInterface hepatitisとの間に0.864と高い相関があった。小葉炎とInterface hepatitisとの間にも0.705と高い相関を認めた。そのため, Interface hepatitisを関連因子として除外して他の3因子でCox比例ハザード分析を行った。同じ炎症を示すグ鞘炎と小葉炎との間の相関係数は0.672であったため両因子とも含めて解析した。

肝炎既往の有無, 初期PSL投与量, 初回肝生検時のALT値, T.Bil値, IgG値, ANAの高低の6因子は早期再燃に関する因子として有意ではなかった。投入した期間内でのPSL中止の有無も関連は少なかった。発症時年齢が40歳以下であること, 初回肝組織所見でグ鞘炎が強いと早期に再燃するという結果が得られた。相反するようであるが, 初回肝組織所見で小葉炎が強いと早期に再燃を起こしにくい結果となっている。今後急性肝炎様発症のAIHで早期の再燃を起こしにくいのかどうかを検討していく必要があると考えられた。

4) 寛解時肝生検所見から以後の肝炎再燃に関する因子の解析 (表3)

昨年度報告では, ①寛解期の病態からはPSLを中止・減量すると肝炎再燃しやすいこと, ②寛解期ALT値が20IU/l以下であると再燃しにくいこと, ③寛解期肝組織所見からは以後の再燃は予測できないことを報告してきた。今年度の結果を合わせてAIHの再燃を予防する治療法を考えていくべきである。

D. 考 察

今年度は寛解期の肝生検例を打ち切り例として投入して, 初期の肝生検所見, 病態から以後の肝炎再燃に関する因子を解析し, 初診時年齢が40歳以下である場合, 初回肝組織所見でグ鞘炎が強い場合には, 早期に再燃する危険性が高いという結果が得られた。早期再燃を予防するためには, 若年発症のAIHで, 肝生検上グ鞘炎の強い症例では, 初期から十分量のPSLを投与し, PSL減量の仕方に留意することが重要である。昨年度報告の解析結果から, PSL長期少量投与が望ましく, 寛解期のALT値は基準値内でも20IU/l以下を維持するように治療を考えていくべきである。

E. 結 論

初期の肝生検所見, 病態から以後の肝炎再燃に関する因子を解析することは, 症例数が少ないAIHであり, 多施設共同研究として長期予後を改善するために重要と考える。急性肝炎様発症のAIHは再燃しにくいのかどうかも含め, 今後の検討を要すると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 中村陽子, 渡部幸夫, 石橋大海: 自己免疫性肝炎に対する副腎皮質ホルモン薬投与は肝線維化を抑制・改善するか? 跡見裕, 上村直美, 白鳥敬子, 正木尚彦編, 臨床に直結する肝・胆・膵疾患治療のエビデンス, 文光堂: 141-143, 2007.

2) 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) Nakamura Y, Watanabe Y, Daikoku M, et al: Evaluation of the therapy according to the pathology of AIH patients in their remission stage. Fifth JSH Single Topic Conference "Liver and Immune Disorder: New Insights from Pathogenesis to Treatment", Japan, 2006.

2) 中村陽子, 玉眞俊平, 菅野聡, 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.

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1 AIH29例の背景因子

	A群 (寛解例)	B群 (再燃例)
症例数	14	15
初診時年齢	62.0±8.8 ^a	50.6±14.6 ^a
男:女	0:14	3:12
肝炎の既往あり	6 (43%)	10 (67%)
初診時ALT	746±532.7	685.6±491.0
T.Bil	6.5±7.5	6.7±9.5
IgG	2291±678.4 ^a	3151±1108.5 ^a
ANA陽性例	11 (79%)	12 (80%)
初期PSL40mg以上	11 (79%)	10 (67%)
対象期間 (ヶ月)	26.6±18.3	32.5±34.9

a): P<0.05

表2 初期肝生検時の所見から以後の肝炎再燃に関する因子の解析 (29例)

	有意確率	ハザード比	95.0%CI
年齢 (40以下)	0.040	23.543	1.150~482.028
初期PSL量 (30以下)	0.872	0.828	0.084~8.200
肝組織 (線維化)	0.313	0.499	0.129~1.927
(グ鞘炎)	0.035	15.806	1.208~206.799
(小葉炎)	0.001	0.044	0.007~0.275
ALT (800以上)	0.923	0.910	0.133~6.232
T.Bil (10以上)	0.761	1.416	0.150~13.329
IgG (3000以上)	0.956	0.953	0.177~5.147
ANA (320以上)	0.912	1.158	0.085~15.842
PSL中止の有無	0.241	0.158	0.007~3.449

(Cox比例ハザード分析)

図1 再燃のない症例の肝組織変化（寛解14例）（A群）

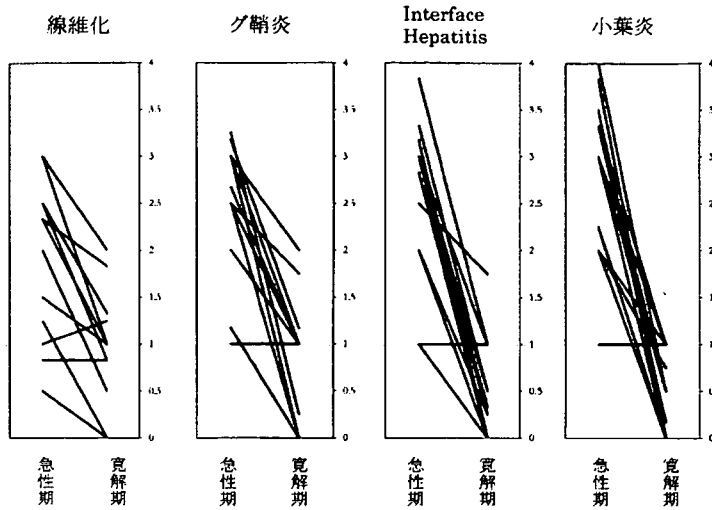


表3 寛解時肝生検所見から以後の肝炎再燃に関する因子の解析（18例）（H18年度報告）

	有意確率	ハザード比	95.0%CI
ALT (21-35/20以下)	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
（グ鞘炎）	0.518	0.517	0.070~3.807
（InterfaceH）	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)

図2 再燃のある症例の肝組織変化（再燃15例）（B群）

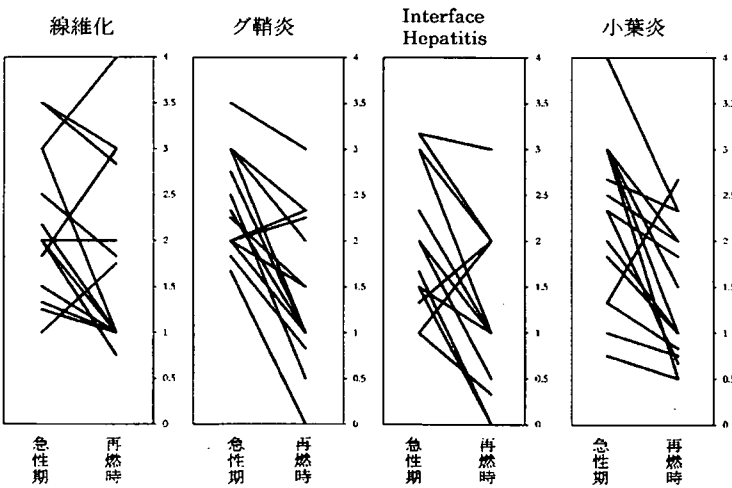
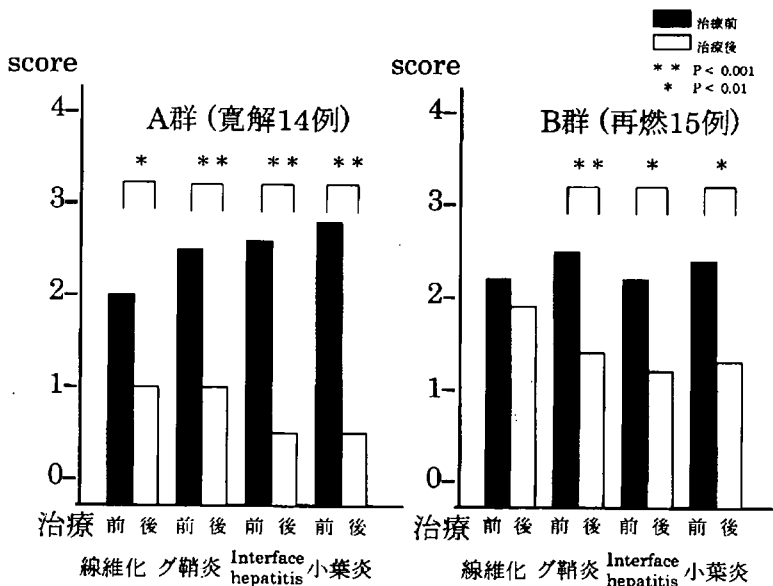


図3 寛解例と再燃例の各組織変化



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

小児期発症自己免疫性肝疾患の実態

研究協力者 藤澤 知雄 済生会横浜市東部病院 こどもセンター 部長

研究要旨：小児期発症の自己免疫性肝疾患には原発性硬化性胆管炎（PSC）と自己免疫性肝炎（AIH）とがあるが、病初期にはPSCでも自己免疫現象が強くみられ、両者の鑑別が困難なことがある。小児期発症PSCでは高率に炎症性腸疾患（ほとんどが潰瘍性大腸炎）を合併し、無症状でも内視鏡検査で発見されることがある。PSCではアトピー性皮膚炎や気管支喘息などのアレルギー性疾患を合併する頻度が高く、血清IgE高値、好酸球増多が多くみられるが、ステロイドは予後改善効果がない。

共同研究者

十河 剛 済生会横浜市東部病院 こどもセンター 医長
小松 陽樹 済生会横浜市東部病院 こどもセンター 医長
乾 あやの 済生会横浜市東部病院 こどもセンター 副部長

A. 研究目的

小児期発症自己免疫性肝疾患の実態を明らかにする。特に原発性硬化性胆管炎（PSC）と自己免疫性肝炎（AIH）の鑑別について検討する。

B. 研究方法

小児期発症AIH18例（0歳～15歳）、PSC14例（2～15歳）の臨床検査、合併症、予後について比較検討した。

C. 研究結果

発症年齢はAIH 8.1 ± 4.5 歳、PSC 8.5 ± 4.7 歳で両者に有意差はみられなかった。男女比はAIH8:10、PSC8:6とAIHでやや女児が多く、PSCでやや男児が多い傾向があったが、有意差はなかった。総ビリルビン値；AIH 5.4 ± 5.7 mg/dl、PSC 1.7 ± 1.7 mg/dl（N.S.）、ALT値；AIH 1043.1 ± 1066.6 IU/l、PSC 189.3 ± 206.1 IU/l（ $P < 0.001$ ）、 γ -GTP値；AIH 83.4 ± 42.6 IU/l、PSC 308.9 ± 247.5 IU/l（N.S.）、IgG値；AIH 1868.8 ± 844.3 mg/dl、PSC 2180.3 ± 697.6 （N.S.）、抗核抗体>80倍；AIH7例、PSC5例（ $P=0.7267$ ）、抗平滑筋抗体80倍以上；AIH2例、PSC4例（ $P=0.1874$ ）とALT値のみ両者間で有意差がみられた。また、AIHとPSCの比較検討はできなかったが、PSCではIgE高値が89%、好酸球増多が62%にみられた。

AIH scoringではAIHではdefinite AIH14例、probable AIH4例であった。この4例のうち3例は黄疸とトランスアミナーゼ高値で発症し、病理学的には線維化がほとんどなく、小葉内の壊死炎症が強くみられる急性発症型AIHであり、これらの症例ではIgG値が低く、自己抗体も診断時には陰性であった。一方、PSCでも2例がdefinite AIH、7例がprobable AIHであり、14例中9例（64%）がprobableもしくはdefinite AIHと診断された。

合併症としてはPSCではアトピー性皮膚炎4例、気管支喘息2例とアレルギー性疾患を高率に合併してい

た。また、炎症性腸疾患の合併は14例中13例（93%）にみられ、無症状であっても内視鏡検査をすると潰瘍性大腸炎が発見された症例が3例あった。

治療に関してはAIHではメチルプレドニステロイドパルス療法により全例が4か月以内にトランスアミナーゼ値が正常化するが、PSCでは肝移植を受けた4例はすべて移植前にステロイドを投与されていた。一方でPSCで軽快した6例においては、外胆汁瘻を行った1例以外ではウルソデオキシコール酸（UDCA）+SASPor5-ASAの併用療法が行われていた。

D. 考察

血液検査データからはALT値のみがAIHとPSCで有意差がみられたが、PSCでもALT高値例があることより、やはり病初期には両者の鑑別が困難であることが示唆された。PSCでも14例中6例（43%）に緩解するもみられるが、UDCA+SASPor5-ASAが予後を改善する可能性が示唆されるが、さらに長期間の経過観察が必要である。

E. 結論

小児ではAIHとPSCを病初期に鑑別することは困難なことがあるが、ステロイドによる治療効果が大きく異なる。アレルギー性疾患の合併、IgE高値、好酸球増多がみられる場合にはPSCの方を疑う。PSCでは無症状でも内視鏡検査を行うことで潰瘍性大腸炎を発見することがある。

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 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

自己免疫性肝炎の経過と遺伝的素因

研究協力者 吉澤 要 信州大学医学部 内科学第二 講師

研究要旨: 自己免疫性肝炎 (AIH) は、疾患感受性にHLA-class II 遺伝子が強く関与しているが、その病態には多様性があり、多遺伝子疾患であると考えられている。HLAおよびそれ以外に9の疾患感受性、17の疾患抵抗性遺伝子の存在の可能性をこれまでに報告してきた。今回、遺伝的背景がAIHの長期臨床経過に及ぼす影響を検討した。その結果、HLA class I, IIやGenome-wide microsatelliteにて解析した遺伝子多型と臨床経過には相関はみられなかった。長期観察の結果ではAIH予後は比較的良好であり、現時点では、早期診断と再燃を繰り返さないステロイド維持療法が予後を決定する因子であった。

De novo AIH症例の組織学的、免疫学および遺伝学的検討では、患者T細胞がdonorの肝細胞を攻撃しており、肝細胞障害機序や、その標的抗原をさらに検討し解析することはclassical AIHの病態解析においても重要である。

共同研究者

一條 哲也 信州大学医学部 内科学第二 助教
梅村 武司 信州大学医学部 内科学第二 助教

A. 研究目的

自己免疫性肝炎 (AIH) は、その疾患感受性にHLA-class II 遺伝子が強く関与しており、わが国では、HLA-DR4と疾患感受性との相関が報告されている。しかし、その病態には多様性があり多因子遺伝疾患であると考えられている。われわれは、HLA領域および全染色体のゲノムワイドマイクロサテライト解析の結果、HLA class II, およびそれ以外に9の疾患感受性、17の疾患抵抗性遺伝子の存在を示唆する報告をしており (J Hepatol 2005, Hepatology 2007) これら遺伝的背景が自己免疫性肝炎の臨床経過に及ぼす影響について検討する。また、PBCにて肝移植後de novo AIHを発症した症例の組織像、浸潤細胞の検討、および患者donorの遺伝的素因を検討した。

B. 研究方法

1970年から2005年に、信州大学および関連施設において肝組織検索がなされ、国際診断基準疑診以上でAIHと診断された症例110例につき、遺伝的背景 (HLA領域および全染色体のゲノムワイドマイクロサテライト解析)、組織所見、治療法、合併症、臨床経過、予後、肝細胞癌合併の有無を検討した。

C. 研究結果

経過観察例においては、5例を除き診断時よりステロイド投与を行っている (平均観察期間は11.6年、最長34年)。初回入院時 (診断早期) に死亡したのは6例で、全例診断の遅れやステロイド開始の遅れによる肝不全死であった。長期経過観察中に死亡した症例のうち2例は、ステロイドを自己判断で中止し激しい再燃を起こして肝不全となったものであった。5年以上の長期経過例でステロイド中止後無再燃例は6例、ス

テロイドの少量持続投与にて無再燃例は43例、ステロイド減量あるいは中止後の再燃は19例であった。悪性腫瘍以外の疾患での死亡は4名と少なく、また事故死1名以外は高齢者であり、ステロイド継続投与中に肝癌以外の肝疾患関連死はなかった。肝細胞癌の発生は7例に認められたが、うち6症例はステロイド減量による再燃を繰り返し、このうち5例ではアザチオプリンを併用していた。1例はUDCAのみの投与であった。肝以外の悪性腫瘍は4例であったが、経過中の再燃の有無とは関連がなかった。ステロイド中止後無再燃群、ステロイド維持無再燃群と再燃群とにおいて、HLA-class I, II, HLA領域および全染色体のゲノムワイド解析では差はみられなかった。

De novo AIHにおいて、肝組織浸潤リンパ球は患者由来であり、肝細胞はdonor由来であった。浸潤リンパ球はCD8陽性T細胞優位であった。HLAとの関連では、HLA-DR4は患者にはなく、donorはもっていた。また、GST (glutathione S transferase) T-1はともにnull typeであった。

D. 考 察

現在のgenome-wide microsatellite解析で検索しえた限りでは、遺伝的背景の差による臨床経過の違いはなかった。今後さらに新しい遺伝子解析手法による詳細な検討の必要がある。また、初診時の検査と予後の相関もなかった。現時点では、早期の診断と治療、再燃を繰り返さないステロイド緩解維持療法が予後に最も関連し、再燃を繰り返さなければ、AIHの予後は比較的良好であった。

PBC肝移植後de novo AIHの発症機序として、GSTT-1の遺伝子多型が報告されているが、本例では、異なる機序が推定された。本例は、AIH score治療前で16点、治療後は、再燃もあるため19点と、確診であった。また、肝移植後、donorのリンパ球が残存していることも報告されているが、今回の検討では、肝浸潤リンパ球は患者由来であり、肝細胞はdonor由来であ

ることから、拒絶反応との鑑別も検討する必要である。

E. 結 論

現時点では、遺伝的素因とAIHの臨床経過に明らかな相関はみられておらず、AIHの長期予後は早期の診断・治療と、再燃を繰り返さないステロイド維持療法が重要である。

De novo AIHの発症機序を、組織学的、免疫学および遺伝学的に肝細胞障害機序や、その標的抗原を解析することはclassical AIHの病態解析においても重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 吉澤要, 清澤研道: 自己免疫性肝炎. 林紀夫, 日比紀文, 上西紀夫, 下瀬川徹 編, Annual Review 消化器 2007, 167-173, 中外医学社, 2007.
- 2) 吉澤要: 自己免疫性肝炎. TODAY'S THERAPY 2008 今日の治療指針, 406-407, 医学書院, 2008.
- 3) Yokosawa S, Yoshizawa K, Ota M, et al: A genomewide DNA microsatellite association study of Japanese patients with autoimmune hepatitis type 1. Hepatology 45: 384-390, 2007.
- 4) Umemura T, Ota M, Yoshizawa K, et al: Lack of association between FCRL3 and Fc γ RII polymorphisms in Japanese type 1 autoimmune hepatitis. Clin Immunol 122: 338-342, 2007.
- 5) Yoshizawa K, Shirakawa H, Ichijo T, et al: De novo autoimmune hepatitis following living-donor liver transplantation for primary biliary cirrhosis. Clin Transpl: in press, 2008.

2. 学会発表

- 1) Yoshizawa K, et al: Genome-wide Screening for Autoimmune Hepatitis Susceptibility and Resistance Genes in Japanese. The 17th APASL, Kyoto, 2007.
- 2) 吉澤要, 一篠哲也, 梅村武司, 他: 自己免疫性肝炎の疾患感受性・抵抗性に関わる遺伝子のゲノムワイド解析. 第43回日本肝臓学会総会, 東京, 2007.

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