

#### IV. 分 担 研 究 報 告

## IV-1. 自己免疫性肝炎分科会

1. 自己免疫性肝炎における COX-2 遺伝子プロモーター領域多型の解析 .....  
昭和大学医学部 内科学講座消化器内科学部門 広石 和正
2. 自己免疫性肝炎モデルを用いた発症進展機序の解析 .....  
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 銭谷 幹男
3. 自己免疫性肝炎におけるヌクレオソームの病態への関与 .....  
福島県立医科大学 内科学第二講座 大平 弘正
4. 自己免疫性肝炎の診断 .....  
神奈川県川崎市立病院 内科 森實 敏夫
5. 自己免疫性肝炎の病態と予後の解明 .....  
慶應義塾大学医学部 消化器内科 日比 紀文
6. 自己免疫性肝炎に対する治療介入が組織学的変化におよぼす影響について .....  
虎の門病院分院 臨床検査部 鈴木 義之
7. 自己免疫性肝炎における UDC A 治療の評価 .....  
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器・肝臓・感染症内科 山本 和秀
8. IgG4 関連自己免疫性肝炎の検討 .....  
信州大学医学部 内科学第二 吉澤 要
9. 肝硬変の成因別実態からみた自己免疫性肝炎の位置づけ .....  
愛媛大学大学院 先端病態制御内科学 恩地 森一

# 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 COX-2 遺伝子プロモーター領域多型の解析

研究分担者 広石 和正 昭和大学医学部 内科学講座消化器内科学部門 講師

**研究要旨：**COX-2は炎症、腫瘍形成に関わり、そのプロモーター領域には様々な転写因子結合部位が存在する。COX-2遺伝子プロモーター領域の多型が自己免疫性肝炎の病態に関与するかを検討するため、-1195A/Gと-765G/Cの多型を解析し、自己免疫性肝疾患、ウイルス性肝疾患の各病態と比較検討を行った。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。自己免疫性肝炎と原発性胆汁性肝硬変は正常コントロールと比べ有意な差を認めず、多型と病態との関連も示せなかった。一方、ウイルス肝炎（B型、C型肝炎）では自己免疫性肝疾患、正常コントロールに比べ-1195のA及びAを含む多型が有意に多く認められ、またC型肝炎では病態の進行とともに-1195Gの頻度が多く、機能解析でも-1195Gの多型のプロモーター活性が強く病態の進行に影響を与えている可能性が考えられた。COX-2遺伝子プロモーター領域-1195A/Gの多型の違いがCOX-2発現程度に影響を与える可能性が示唆されたが、自己免疫性肝疾患の病態との関連性は低いと考えられた。

#### A. 研究目的

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、血管新生の促進、抗アポトーシス、腫瘍細胞の浸潤の促進、T細胞応答の抑制にかかわる。また、COX-2プロモーター領域にはNF $\kappa$ -Bなど様々な転写因子結合部位を持つ。本研究は、COX-2遺伝子プロモーター領域のDNA多型と機能解析を行い、自己免疫性肝炎の病態との関連を検討することを目的とする。

#### B. 研究方法

末梢血（AIH 43例、PBC 60例、HCV 109例、HBV 37例、Control 74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断片は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。-1195A/Gの多型に対象肝疾患間で有意差を認めたため、-1195Aまたは-1195Gの多型を含むCOX-2プロモーター領域をそれぞれpGL4 luciferase reporter vectorに挿入しplasmidを作成後、HepG2、Huh7細胞にplasmidをtransfectionしLuciferase assayを行いプロモーター領域の機能解析を行った。

（倫理面への配慮）

昭和大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査委員会に研究実施申請書を提出し、倫理規定と照合された結果、研究実施の承認を得た。

#### C. 研究結果

自己免疫性肝炎と原発性胆汁性肝硬変は正常コントロールと比べそれぞれの多型と有意な差を認めず、病態との関連も認めなかった。一方、ウイルス肝炎（B型、C型肝炎）では自己免疫性肝疾患、正常コントロールに比べ-1195のA及びAを含む多型が有意に多く認められた（-1195A/A vs G/A or G/G: AIH vs HBV p=0.0009, AIH vs HCV p=0.0014, PBC vs

HBV p=0.0015, PBC vs HCV p=0.0024, Control vs HBV p=0.0177, Control vs HCV p=0.0257）（-1195A vs G: AIH vs HBV p=0.0159, AIH vs HCV p=0.0045, PBC vs HBV p=0.0232, PBC vs HCV p=0.0069, Control vs HCV p=0.0223）。またC型肝炎では病態の進行とともに-1195Gの頻度が多く（ALT 30IU/l未満（ALT-L）vs ALT 30IU/l以上（ALT-H）p=0.0459, ALT-L vs LC p=0.0044）、機能解析でも-1195Gの多型のプロモーター活性がHepG2、Huh7両cell lineともに強く認め病態の進行に影響を与えている可能性が考えられた（HepG2: -1195G vs A p=0.032, Huh7: -1195G vs A p=0.0088）。一方、-765G/Cの多型と各肝疾患との関連は認めなかった。

#### D. 考察

C型肝炎においては、COX-2遺伝子プロモーター領域-1195A/Gの多型の違いがCOX-2発現程度に影響を与え、病態の進行とCOX-2の関与が想定された。しかし、今回検討した領域において、自己免疫性肝炎の病態とCOX-2プロモーター領域の多型の関連性は低いと考えられた。

#### E. 結論

自己免疫性肝炎の病態とCOX-2プロモーター領域の多型の関連は低いと考えられた。C型肝炎の発症、進展にCOX-2が関与している可能性がある。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Intrahepatic status of regulatory T cells in autoimmune liver diseases and chronic viral hepatitis. Sakaki M, Hiroishi K, Baba T, Ito, T.

Hirayama Y, Saito K, Tonoike T, Kushima M, Imawari M. *Hepato Res* 38 (4): 354-361, 2008.

2) Immune Responses in HCV Infection and Mechanisms of HCV Persistence. Hiroishi K, Ito T, Imawari M. *J Gastroenterol Hepatol* 23 (10): 1473-1482, 2008.

## 2. 学会発表

1) C型肝炎におけるCOX-2プロモーター領域多型の解析. 坂木理, 牧野鈴子, 広石和正, 土肥弘義, 江口潤一, 馬場俊之, 井廻道夫. 第44回日本肝臓学会総会

2) C型急性肝炎におけるHCV特異的CTL応答の解析. 土肥弘義, 広石和正, 井廻道夫. 第12回日本肝臓学会大会. シンポジウム「肝炎ウイルス感染と免疫」

3) Magnitude of HCV-specific CD8+ T cell responses and severity of hepatitis do not determine the outcome in acute HCV infection. Doi H, Hiroishi K, Eguchi J, Baba T, Ishii S, Hiraide A, Sakaki M, Imawari M. *The Liver Meeting 2008, The 58th Annual Meeting of The American Association for The Study of Liver Diseases*

## 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

# 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

## 自己免疫性肝炎モデルを用いた発症進展機序の解析

研究協力者 銭谷 幹男 東京慈恵会医科大学大学院 消化器内科 教授

**研究要旨:** 自己免疫性肝炎 (AIH) の発症進展機序を明らかにする目的で、樹状細胞と高分化型肝癌細胞の融合細胞と IL-12 を投与して作製した動物モデルを用いて、その免疫動態を解析した。このモデルでは肝炎誘導後に肝内炎症が自然経過により改善するが、肝内では炎症極期から Foxp3 陽性細胞 (Treg) の増加を認め、肝炎の自然軽快に Treg が関与している可能性が示された。また、このモデルで誘導された肝炎は、ステロイド投与により改善した。

### 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

佐伯千里 東京慈恵会医科大学 内科学講座  
消化器・肝臓内科 大学院生

中野真範 東京慈恵会医科大学 内科学講座  
消化器・肝臓内科 大学院生

### A. 研究目的

自己免疫性肝炎 (AIH) の発症進展機序は明らかにされていない。本研究では、AIH の発症進展に関わる発症初期における免疫動態を明らかにする目的で、新たに作製した動物モデルを用いて検討した。

### B. 研究方法

すでに報告したように、C57BL/6 マウスに樹状細胞と高分化型肝癌細胞 (Hepal-6) の融合細胞を投与し、その後 IL-12 を投与すると、肝細胞特異的 CD4, CD8 活性化をともなう肝炎が誘導される (Clinical Immunology 117:280-293, 2005)。肝炎は day21 に極期となるが (肝炎期)、その後自然経過で day23 には改善する (改善期)。

そこで、融合細胞投与前、肝炎期、改善期における肝臓、肝内リンパ球、脾臓の Foxp3 発現を qRT-PCR、免疫組織染色で評価し、Treg の CXCR3 発現を FACS で、そのリガンド CXCL9, CXCR10 の肝内発現を qRT-PCR、免疫組織染色で評価した。ついで Treg 分化を誘導する TGF- $\beta$ 1, IL-2 の肝内発現を qRT-PCR で評価し、肝内 CD4+ CD25- 細胞を分離し in vitro で TGF- $\beta$  と IL-2 を加え CD3, CD28 刺激抗体で 72 時間刺激後の Foxp3 発現を qRT-PCR で評価した。また day16~20 にステロイド (5mg/kg) 投与時の ALT, 組織所見を解析し、肝臓、肝内リンパ球、脾臓における Foxp3 発現を qRT-PCR で評価した。

### C. 研究結果

1. Foxp3 mRNA 発現は、肝内では肝炎期で上昇、肝内リンパ球では肝炎期、回復期で上昇、脾臓では肝炎期で減少した。また Foxp3+ 細胞は肝実質、類洞内に存在していた。
2. Treg の CXCR3 発現は肝炎期に 96.8% と著明に上

昇、CXCL9, CXCR10 の mRNA 発現は肝炎期で有意に上昇しており、類洞内皮細胞に CXCL9 の発現を認めた。

3. 肝内における TGF- $\beta$ 1, IL-2 発現は肝炎期で上昇しており、肝内 CD4+ CD25- 細胞を TGF- $\beta$ , IL-2 存在下で培養すると Foxp3 mRNA 発現が上昇した。
4. ステロイド投与により肝炎期でのリンパ球浸潤、ALT は有意に改善し、肝内および肝内リンパ球の Foxp3 mRNA 発現は低下した。

### D. 考察

AIH の発症進展への制御性細胞の関与は、これまで明らかにされていなかった。ヒト末梢血検体を用いた研究では、Treg の量および機能の低下が報告されており、この AIH モデルにおいても発症時に Treg の量的質的な低下が認められる可能性を想定していた。

しかし、肝炎期には肝内の Treg は発症前に比し増加していることが明らかとなり、生体内では自己免疫性肝障害が生じたあとには反応性に Treg が増加し、その作用により自然経過による炎症改善が誘導される可能性が示された。

また、肝炎期の肝内で Treg が増加する機序としては、肝内の T 細胞遊走性ケモカインの増加、Treg のケモカイン受容体発現増強が見られたこと、Treg の分化、増殖を促進する TGF- $\beta$ , IL-2 が肝内で増加していたこと、肝内浸潤 CD25- 細胞が in vitro で TGF- $\beta$ , IL-2 存在下で Foxp3 陽性細胞に分化したこと、などの事実から、Treg の末梢から肝内へのリクルート、肝内での Treg の分化誘導、増殖が関わりと考えられた。

一方、炎症が生じた時点からステロイドを投与すると、肝内の炎症性単核球浸潤、ALT 値増加のいずれも改善し、ステロイド治療の有効性が示された。この際に肝内における接着分子の発現低下がみられ、ステロイドの効果発現にリンパ球の肝内リクルートの抑制が関与すると考えられた。

### E. 結論

AIH モデルにおいて、Treg は肝炎期から肝内に遊

走し、また肝内で分化増殖して、肝炎の自然経過による改善に寄与していると考えられた。また本モデルの肝炎はステロイドで改善することが明らかとなった。

#### 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) 第44回日本肝臓学会総会：発表（2008年5月）
  - 2) 第59回アメリカ肝臓学会：発表（2008年11月）

#### 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スクレオソームの病態への関与

研究協力者 大平 弘正 福島県立医科大学内科学第二講座 教授

**研究要旨:** 自己免疫性肝炎 (AIH) の病態進展に関わる因子としてスクレオソームに着目し、AIH 患者でのスクレオソームに対する免疫応答について評価した。AIH 患者では、血清中抗スクレオソーム抗体価が対照群に比べ有意に高く、末梢血可溶性 Fas リガンド値が高値であり、これらは ALT 値と有意な相関を示した。また、AIH 患者では、治療開始による肝炎の活動性の低下とともにスクレオソーム抗体価が低下を示した。更に、AIH 患者の末梢血単核球をスクレオソームで刺激すると、濃度依存性に IFN-g 産生を示した。これらの結果から、AIH 患者においては、何らかの理由により肝細胞でのアポトーシス亢進状態があり、出現したスクレオソーム抗原に対する免疫寛容が破綻し、AIH の病因・病態進展に関与している可能性が示唆された。なぜ肝細胞でアポトーシスが亢進し、免疫担当細胞はスクレオソーム抗原をどのように認識し、免疫反応が生じるのかに関しては、今後の研究課題である。

#### 共同研究者

横川順子 福島県立医科大学 内科学第二講座

#### A. 研究目的

全身性エリテマトーデス (SLE) ではアポトーシスが亢進し、末梢血中で DNA とヒストンの複合体であるスクレオソームの過剰状態が生じ、これに対する T 細胞、B 細胞での免疫寛容の破綻が、病因・病態進展に関与するとの知見が蓄積されつつある。肝障害を伴う SLE では、リンパ球のみでなく肝臓でもアポトーシスが亢進していると報告され、今回、我々は、自己免疫性肝炎 (AIH) の病態進展にも同様にスクレオソームが関与している可能性を検討した。

#### B. 研究方法

AIH 患者 34 例、SLE 患者 33 例、対照として健康者 15 例、B 型慢性肝炎患者 (CHB) 20 例、C 型慢性肝炎患者 (CHC) 20 例を対象とした。各症例において、血清中抗スクレオソーム抗体、可溶性 Fas リガンドを ELISA で測定し、対照群と比較した。また、chicken 末梢血から micrococcal nukleアーゼを用いてスクレオソームを単離し、AIH 患者の末梢血単核球 (PBMC) を刺激培養し、培養上清中の IFN-g を測定し、健康者と比較した。

#### C. 研究結果

血清中の抗スクレオソーム抗体価は SLE、AIH 患者において、健康者群より有意に高値を示した ( $P < 0.0001$ )。一方で、CHB、CHC 患者では、健康者群との差を認めなかった。末梢血可溶性 Fas リガンド値は、AIH 患者、肝障害を伴う SLE 患者において、健康者群より有意に高値を示し ( $P < 0.05$ )、アポトーシスの亢進状態にあることが示唆された。末梢血可溶性 Fas リガンド値と ALT レベルには有意な相関があり、肝細胞におけるアポトーシスの亢進状態の可能性が示唆された。また、AIH 患者では、治療開始による肝炎の活動性の低下とともに、スクレオソーム抗体

価は低下を示した。更に、chicken 末梢血から単離されたスクレオソームで SLE、AIH 患者の PBMC を刺激すると、濃度依存性に IFN-g 産生が増加した。一方、健康者での IFN-g 産生は認めなかった。

#### D. 考察

AIH 患者では、何らかの理由により肝細胞でアポトーシスの亢進状態にあり、出現したスクレオソーム抗原に対する免疫寛容が破綻している可能性が示唆された。今後、なぜ肝細胞でアポトーシスが亢進し、免疫担当細胞はスクレオソーム抗原をどのように認識し、免疫反応が生じるのか、十分な検討が必要である。

#### E. 結論

AIH 患者では、スクレオソームに対する免疫寛容の破綻があることが示唆され、病因・病態進展に関与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 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

### 自己免疫性肝炎の診断

研究協力者 森實 敏夫 神奈川歯科大学内科 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にもとづく、2因子スコア加算システムの診断能を解析した。血清ALP/正常上限値比<1.3で1点、血清ALT値≥120で2点、抗ミトコンドリア抗体<20倍で2点を加算し、スコア3点以上で、感度90%特異度90%で自己免疫性肝炎と診断することができる。問診、血液検査、腹部超音波検査など日常臨床で行われている検査で、ウイルス性肝炎などが除外された時点で、AIHの疾患確率を設定し、3因子スコア加算システムを適用することによって、正診率約90%でAIHの診断が可能と考えられる。また、AIHの事後確率が低い場合には、原発性胆汁性肝硬変が疑われる。AIH診断法として3因子スコア加算システムは有用と考えられる。

#### 分担研究者

海老沼浩利 慶応義塾大学医学部消化器内科  
 多田慎一郎 慶応義塾大学医学部消化器内科  
 斎藤 英胤 慶応義塾大学医学部消化器内科  
 日比 紀文 慶応義塾大学医学部消化器内科  
 銭谷 幹男 慈恵会医科大学消化器肝臓内科  
 高橋 宏樹 慈恵会医科大学消化器肝臓内科  
 渡辺 文時 慈恵会医科大学消化器肝臓内科

#### A. 研究目的

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、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。さらに、ロジスティックモデルの係数に基づいた3因子に基づく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。

今回、この3因子に基づくスコア加算システムの診断能を前記の212例に適用し、その診断能を明らかにするとともに、一般医にも使用可能な診断アルゴリズムを作成した。

#### B. 研究方法

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)を算出することが可能であるが、今回はスコアをそれぞれ該当する項目について加算する、3因子スコア加算

システムについて検討した。

表1. 3因子モデル

項目	値	Xi	係数 bi	スコア
1. ALP/ 基準値上限	<1.3	+1	1.20213582	+1
	≥1.3	-1		0
2. ALT	≥120	+1	1.83947487	+2
	<120	-1		0
3. AMA	<20倍	+1	1.72945375	+2
	≥20倍	-1		0

$$\text{式1-1: } Y = -0.5839365 + b1X1 + b2X2 + b3X3$$

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

なお、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。すべての項目が該当する場合、スコア5となり、最小値は0となる。

対象症例は、AIH77例、原発性胆汁性肝硬変121例、原発性硬化性胆管炎2例、自己免疫性胆管炎12例である。

#### C. 研究結果

3因子スコア加算システムで、カットオフ値を変動させた場合の、AIH診断に対する感度・特異度を表2に示す。総スコア≥3でAIHと診断した場合、感度90%、特異度90%となった（表2）。

表2. 総スコアカットオフ値と感度・特異度

カットオフ値	感度	特異度
≥1	1	0.39
≥2	0.99	0.67
≥3	0.9	0.9
≥4	0.7	0.96
≥5	0.39	1

さまざまな総スコアのカットオフ値によって、AIH



と診断する場合の、事前確率と事後確率の関係を図1に示す。

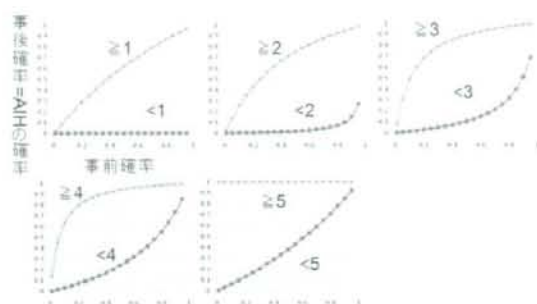


図1. さまざまなカットオフ値における、事前確率と事後確率の関係。

それぞれのグラフで上段はカットオフ値以上の場合の事前確率と事後確率の関係、下段はカットオフ値未満の場合の事前確率と事後確率の関係を示す。

また、さまざまな総スコアのカットオフ値によってAIHと診断する場合の、事前確率と正診率の関係を図2に示す。

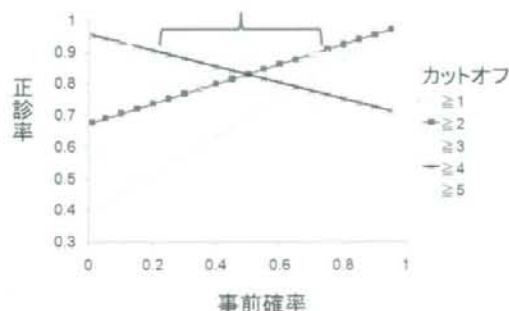


図2. さまざまなカットオフ値における、事前確率と正診率の関係。

事前確率が約0.3以上の範囲では、カットオフ値 $\geq 3$ で正診率は約90%となり、事前確率が約0.7以上の範囲では、カットオフ値 $\geq 2$ または $\geq 1$ でも正診率は約90%となる。

#### 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の3因子ロジスティックモデルから導き出された3因子スコア加算システムは、コンピュータを要するような計算が不要で、日常臨床で容易に用いることが可能である。総スコア $\geq 3$ でAIHと診断すると感度90%、特異度90%であることが判明した。

感度・特異度はその算出のもとになった症例群および対照群の疾患スペクトルによって、誤差が生じるが、診断法に固有の属性である。一方、事後確率は事前確率に影響されるので、診断法が用いられる状況で異なってくる。また、正診率は感度・特異度の値が同じである場合を除き、事前確率によって変動する。

このような診断法を実際に個々の症例に適用する場合には、事前確率のアセスメントが必須である。しかし、多くの臨床状況では、事前確率を客観的に設定することは困難であり、多くの医師が陽性の結果が出れば、診断を確定し、陰性であれば、除外するというを行っているのが現状である。しかし、事前確率を無視して、検査結果が陽性であれば、診断を確定するという方法の場合には、(この3因子スコア加算システムの場合には総スコア $\geq 3$ を陽性として取り扱う)、実際には、その医療施設あるいは担当医が診療する患者における、AIHの有病率を事前確率とするのと同等である。したがって、同じ検査結果が得られても医療施設ごとにまた医師ごとにその患者の疾患確率は異なることになる。

個別症例で、AIHが疑われるに至るまでには、問診により、アルコール性肝障害、薬剤性肝障害の可能性が低く査定され、肝機能検査で、アミノトランスフェラーゼが高値で、ALP、 $\gamma$ -GTPなど胆道系酵素の上昇は強くなく、肝炎ウイルスマーカーが陰性で、さらに超音波検査などの画像検査で、腫瘍性疾患、胆石、脂肪肝などが否定的であるといったアセスメントが行われているはずである。さらに、血清IgG高値が認められたり抗核抗体陽性であったりといった状況で、AIHの疾患確率を医師が主観的に設定することになる。

専門医であれば、肝生検を行い、肝組織像をさらに診断に活用することができるが、肝生検を行うことなくAIHの診断ができれば、患者への負担も軽くなるので、今回提示した臨床検査のみの3因子スコア加算システムは診断能が高ければ有用性が高いと言える。

このように事前確率を医師の主観的確信度として設定することは、日常診療において不可避であり、それが検査結果によって、どう変動するかはベイズの定理に従う<sup>2</sup>。図1に示した、事前確率と事後確率の関係もベイズの定理に従って算出したものである。

そこで、日常診療におけるAIH診断にいたるプロセスを考慮して、図3に示すような診断アルゴリズムが提案できる。問診、血液検査、画像検査を終了した段階で、AIHの疾患確率をアセスメントし、抗ミトコンドリア抗体検査を施行すれば、3因子スコア加算システムを適用して、AIHの疾患確率をグラフから



図3. 自己免疫性肝炎診断アルゴリズム

求めることができる。また、AIHの疾患確率が低い場合には、PBCの可能性が高くなる。MRCPを施行すれば、PSCとの鑑別をすることが可能であり、それでも診断が困難な場合には、肝生検を施行する必要が出てくるであろう。

今後、スコア加算モデルの有用性について、異なる患者集団における検討が望まれる。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

- 1) 自己免疫性肝炎の診断において、血清ALP、ALT、抗ミトコンドリア抗体の3因子によるスコア加算モデルの感度・特異度はそれぞれ90%であった。
- 2) 日常診療で汎用されている検査の結果に基づき、自己免疫性肝炎の疾患確率を設定し、3因子スコア加算モデルを適用することによって、正診率90%で診断が可能と考えられる。

#### F. 健康危険情報

#### 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

#### 文献

- 1) 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;40:1148-54.
- 2) 森實敏夫: 入門医療統計学。2004年, 東京図書。

自己免疫性肝炎の病態と予後の解明

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:** 前回までに我々は自己免疫性肝炎患者の肝組織中で Th17細胞が増加、制御性 T 細胞が減少していることを報告してきた。特に acute-onset type の自己免疫性肝炎ではその傾向が著明で、その発症と Th17細胞の誘導に密接な関係があることが示唆された。この Th17細胞の増加と制御性 T 細胞の減少による Th17/Treg バランスの変化が自己免疫肝炎に特徴的なことか否かを検討するために、今回は C 型慢性肝炎との比較検討を行った。末梢血単核球での検討でも、肝組織の免疫組織染色でも C 型慢性肝炎では、自己免疫性肝炎と異なり、制御性 T 細胞の増加と Th17細胞の減少が観察された。すなわち、Th17/Treg バランスが制御性 T 細胞優位になっていることが示唆され、自己免疫性肝炎と C 型慢性肝炎とはその病態が異なっていると考えられた。

共同研究者

海老沼浩利 慶應義塾大学医学部消化器内科  
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

A. 研究目的

自己免疫性肝炎 (以下 AIH) は、抗核抗体等の自己抗体が陽性、血清中の免疫グロブリン高値を特徴とする肝炎で、肝細胞に存在する自己抗原に対する免疫反応が原因と推測されているが、実際にはその全容は未だ解っていない。そこで、我々は AIH の病態と予後の解明を目指して、以下のような研究計画を立てた。

(臨床研究 I) 慶應義塾大学関連病院における AIH の診断と治療成績

- 新旧診断基準 (scoring system) による診断
- 治療経過と長期予後
- 合併症との関連性 (含 overlap 症候群)

(臨床研究 II) AIH 患者の免疫動態の解析

- 末梢血、肝組織中 Th17/Treg バランスの解析
- Th17関連 cytokine (IL-17, IL-22) の解析

(基礎研究) ConA 投与マウスを用いた自然免疫・獲得免疫の研究

今回は、以前より研究を行っている末梢血・肝組織中 Th17/Treg バランスの解析について、AIH 患者と C 型慢性肝炎患者 (以下 CH-C) との比較検討を行った。

すなわち、昨年は anti-human IL-17抗体を用いて、肝生検組織の IL-17免疫組織染色を施行し、AIH では多数ではないものの IL-17陽性細胞が存在した。そこで、この肝組織中 IL-17陽性細胞数を患者背景と比較したところ、acute-onset type で chronic type と比較して IL-17陽性細胞数が多い傾向にあった。とりわけ、亜急性型で生体肝移植を要した症例では、著明な IL-17陽性を認めた。さらに、IL-17陽性細胞数と FOXP3陽性細胞数を比較し算出した Th17/Treg バラ

ンス (IL-17+/FOXP3+) は acute-onset type で chronic type と比較して大きい傾向にあった。

本年度はこれらのことが AIH に特徴的なことであるのか否かを検討するために、AIH を CH-C と比較検討することを目的とした。

B. 研究方法

Informed consent の得られた免疫抑制療法未施行の AIH 患者 6 名、CH-C (肝硬変・肝細胞癌合併例を含む) 患者 31 名から末梢血リンパ球 (PBMC) を分離し、PMA/ionomycin で刺激後、PerCP-conjugated anti-CD4, APC-conjugated anti-CD25, FITC-conjugated anti-FOXP (eBioscience), PE-conjugated anti-IL17 (eBioscience) で染色後、flow cytometry にて解析し、Treg (CD4+FOXP3+cells) 及び、Th17細胞 (CD4+IL17+cells) の頻度を解析、両群で比較検討した。

また、AIH 患者の肝生検組織標本 26 検体、CH-C 患者 20 検体を anti-FOXP3 (eBioscience), anti-human IL17 (R&D systems) で免疫組織染色を施行、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両群で比較検討した。

さらに、これらの IL-17陽性細胞と FOXP3陽性細胞の比を計算し、Th17/Treg バランスとして両群で比較検討した。

C. 研究結果

1. PBMC を用いた検討では、AIH 群では CH-C 群と比較し CD4+FOXP3+cells (Treg) の頻度は有意に少なく、一方で CD4+IL17+cells (Th17細胞) の頻度は有意差を認めないものの多い傾向にあった。そこで、これらの頻度の比を算出した Th17/Treg バランスは、AIH 群で CH-C 群と比較して有意に大きい、すなわち Th17 に傾いていた。

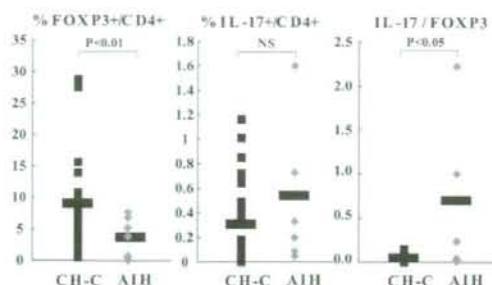


図1 PBMCにおけるTreg, Th17の頻度とTreg/Th17バランス

2. 肝生検組織の免疫組織染色では、AIH群ではCH-C群と比較しFOXP3陽性細胞(Treg)数は有意に少なく、一方でIL-17陽性細胞(Th17細胞)数は有意差を認めないものの多い傾向にあった。また、PBMCの解析と同様にこれらの比を算出したTh17/Tregバランスは、AIH群でCH-C群に比較して有意に大きい、すなわちTh17に傾いていた。

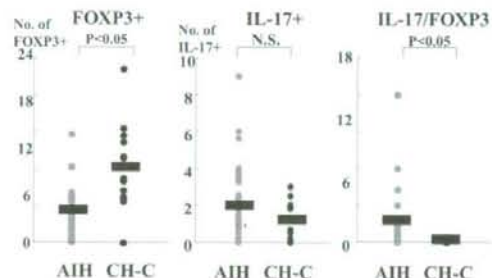


図2 肝組織免疫染色におけるTreg, Th17の頻度とTreg/Th17バランス

#### D. 考察

AIHの病因・病態については依然として解明できていないが、その中でも末梢血中でTregの機能低下が報告されている<sup>11)</sup>。一方で、多くの自己免疫性疾患において、Th17細胞がその発症に関与していることが報告されてきており<sup>12-14)</sup>、自己免疫性肝炎でもTregの機能低下とともに、Th17細胞が誘導されている可能性が十分考えられる。昨年度我々は、AIH患者の肝生検組織のIL-17免疫組織染色を施行し、陽性細胞数はAIHのacute-onset typeでchronic typeと比較して多い傾向にあったことを報告した。反対にFOXP3陽性細胞数はacute-onset typeで少なかったことから、Th17/Tregバランス(IL-17+/FOXP3+)がacute-onset typeではTh17に傾いている可能性が示唆された(2007年度厚生労働科学研究費補助(難治性疾患克服研究事業)分担研究報告書)。

マウスにおいてTregはnaive CD4+T細胞からTGF- $\beta$ によって分化する一方で、Th17はTGF- $\beta$ とIL-6により分化することが報告されている。さらに、Tregを規定する遺伝子であるFOXP3はTh17の分化

を抑制することが報告されており<sup>15)</sup>、TregとTh17は密接な関係にあると想定される。Th17細胞は、細菌や真菌感染に対して宿主の免疫応答を増強し病原体排除に働くだけでなく、experimental autoimmune encephalomyelitis<sup>12,3)</sup>やcollagen-induced arthritis<sup>14)</sup>等の自己免疫性疾患マウスモデルにおいてその病態に重要な役割を担っていることが報告されている。肝疾患における報告は未だ少ないが、急性肝障害の重症例では血清中のIL-17濃度が高いことが報告されており<sup>16)</sup>、肝疾患においてもTh17細胞の病態への関与が考えられている。これらのエビデンスは、AIH、特にその発症時においてTh17/TregバランスがTh17に傾いているという結果と矛盾しないと考えられる。そこで、今回はこのTh17/Tregバランスの増加がAIHに特徴的なことであるのか否かを検討する目的で、CH-Cと比較検討することとした。

CH-Cでは、Tregが増加していることが多数報告されているが、これは過剰な免疫応答を抑制するために誘導されたものと考えられる。PBMCをHCV recombinant proteinとともにin vitroで刺激すると、HCV-specific CD8+cellsの誘導とともに、HCV-specific Tregが誘導される。さらに、この誘導されるHCV-specific Tregは、TGF- $\beta$ の添加により増加することが報告されている<sup>17)</sup>。CH-Cでは、肝病期の進行に伴い肝硬変へと近づくにつれて、局所や血清中のTGF- $\beta$ が増加することから、HCVに対する免疫応答が抑制的に働くことによって、homeostasisを保っていると考えられる。我々の推測のとおり、PBMCにおいても、肝組織においても、AIHと比較してTregが増加しており、Th17/TregバランスはTregに傾いていることが確認された。さらに、CH-CではIL-17陽性細胞は非常に少なく、これが増加しているFOXP3+Tregによって抑制されている可能性が考えられた。

最近、ヒトのTh17細胞の分化には、マウスと異なりTGF- $\beta$ とIL-6でなく、IL-6とIL-1 $\beta$ が必要でTGF- $\beta$ は不要であるとの報告もあり<sup>18,9)</sup>、未だヒトにおけるTh17細胞の役割については不明な点も多い。今後更なる検討が必要であると考えられる。

#### E. 結論

AIHでは、特にその発症時において、Tregの減少とともにTh17細胞が増加し、Th17/TregバランスがTh17に傾いていた。一方でCH-CではそのバランスはTregに傾き、AIHとCH-Cにおける病態の相違が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

- 論文発表 なし
- 学会発表

1) 海老沼浩利, 齋藤英胤, 日比紀文, C型慢性肝

疾患患者における制御性T細胞・Th17細胞の動態とその意義. 第94回日本消化器病学会総会「シンポジウム9: ウイルス肝炎・肝癌に対する生体防御」. 福岡, 2008

2) 尾城啓輔, 海老沼浩利, 山岸由幸, 多田慎一郎, 齋藤英胤, 日比紀文. C型慢性肝炎における制御性T細胞・Th17細胞の解析(自己免疫性肝炎患者との比較). 第45回日本消化器免疫学会総会, 京都, 2008

3) Ebinuma H, Tada S, Ojio K, Masuda T, Saito H, Hibi T. The induction of Th17 cells and reduction of regulatory T cells could participate in the onset of autoimmune hepatitis. The 59th annual meeting of the American for the study of liver diseases, San Francisco, 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

#### I. 参考文献

- 1) Longhi MS, et al. Functional study of CD4+CD25+ Treg cells in health and AIH. *J Immunol* 2006; 176: 4484-91
- 2) Langrish CL, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201: 233-240
- 3) Komiyama Y, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2006; 177: 566-73
- 4) Nakae S, et al. Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice. *J Immunol* 2003; 171: 6173-6177
- 5) Bettelli E, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441: 235-238
- 6) Yasumi Y, et al. Interleukin-17 as a new marker of severity of acute hepatic injury. *Hepatology* 2007; 37: 248-254
- 7) Ebinuma H, et al. Identification and in-vitro expansion of functional antigen-specific CD25+FoxP3+ regulatory T-cells in hepatitis C virus infection. *J Virol* 2008; 82: 5043-5053
- 8) Wilson NJ, et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 950-7
- 9) Acosta-Rodriguez EV, et al. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 942-9

# 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

### 自己免疫性肝炎に対する治療介入が組織学的変化におよぼす影響について

研究協力者 鈴木 義之 虎の門病院分院 臨床検査部部长

**研究要旨：**本邦における自己免疫性肝炎（Autoimmune hepatitis: AIH）は免疫抑制療法を行うことで欧米の症例に比して組織学的改善が得られ、予後が良好である。このため、治療の第一選択薬はプレドニンであり、欧米のようなイムラン等の他の免疫抑制剤の併用は保険認可もされておらずまた用いられることも少ない。しかしながら、長期に亘る免疫抑制剤の使用は糖尿病や骨粗鬆症といった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。我々はこれまでに免疫抑制剤の至適量を設定するパラメーターや中止基準について検討を行ってきた。今年度は、肝生検を繰り返した症例を対象とし、その治療反応性の違いによる組織学的変化をみることでより有効な治療法を設定することをテーマとした。また、1999年に新しく提唱された scoring system により definite AIH と診断された症例を対象とし、この組織学的変化や治療反応性に関わる宿主側の要因についても解析を行った。

#### A. 研究目的

AIH に対する免疫抑制療法の究極の目的は肝臓の組織学的進展（主に繊維化の進行）を改善し、患者の予後の向上を図ることである。このために我々は、治療効果の上がる方法の中で至適量を設定する検討や、中止基準につきこれまで報告してきた。この目的を達成するためには前述した如くどうしても肝生検による組織学的変化の検討が必要となってくる。そこで今年度は自己免疫性肝炎として経過観察中であった症例の肝組織を再度採取し、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ったかどうかを解析すると共に、これに関わる宿主要因の検討も行い、各個人にあった治療法を見出すことを目的とした。

#### B. 研究方法

対象は、2008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122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、48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、治療反応性については CR, PR, NR, relapse の4群に分けて以下の検討を行った。効果判定基準は CR: プレドニン10mg/日以下の維持量で肝酵素が正常域で安定している群, PR: プレドニン10mg/日を超えた量でのみ肝酵素の正常化を維持できる群, NR: プレドニン20mg/日を超えているにも関わらず肝酵素の正常化が維持できない群, relapse: プレドニンを漸減すると肝酵素の再上昇が認められる群とした。組織学的変化については HAIScore を用いて評価し、2 point 以上の改善を改善例とし、0-1 point を不変、点数が増加した症例を悪化とした。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 CLEIA 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

48例の組織学的変化は、HAIScore でみると改善42例（87.5%）、不変2例（4.2%）、悪化4例（8.3%）であり、免疫抑制療法が奏功している症例では、組織学的に改善が認められた。表1に示すように NR 例と relapse 例からはそれぞれ2例ずつの悪化例が認められた。表2にはそれぞれの群の HAIScore の変化を示すが、NR 例においては著明に score の改善度が劣っていた。HLA を検索し得た症例において、治療反応性と組織学的変化の関連をみると、DR8をもっている症例の治療反応性が最も悪く、DR14を有している症例は治療反応性、組織学的改善度とも良好であった。

表1. 治療効果別にみた組織学的変化

治療効果	改善	不変	悪化
CR	19	1	0
PR	12	0	0
NR	2	1	2
Relapse	9	0	2
total	42	2	4

表2. 治療効果別にみた HAIScore の変化

治療効果	症例数	治療前	経過中
CR	20	9.1±3.4	4.1±1.1
PR	12	8.4±2.9	4.7±1.9
NR	5	5±1.4	4.6±2.2
relapse	11	8.5±3.9	5.5±3.6

#### D. 考察

AIH の長期にわたる組織学的変化を検討したが、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。治療反応性の良好な症例ほど組織学的改善がえられるのは当然の事ながら、NR 例において治療開始前の HAIScore が有意に低いこと

は今後さらに詳細な検討が必要と考える。また、今回の背景因子の検討で明らかとなったように、HLAの違いにより治療反応性に違いがあるとすれば、今後の免疫抑制療法の漸減法や治療開始のタイミング等につき検討されるべきと考える。

#### E. 結論

AIH 症例の予後を規定する組織学的変化は、治療反応性により異なることが明らかとなった。今後は、その治療反応性に関わる宿主要因をさらに解析していくことが肝要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 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 2004; 19: 699-706
- 2) Suzuki Y, et al: The implication of peripheral CD8+/CD25+lymphocytes in hepatocellular injuries in patients with acute-onset autoimmune hepatitis. Journal of Gastroenterology 2004; 39: 649-653
- 3) 鈴木義之 自己免疫性肝疾患の経過中 overlap 症候群へと変化した症例の検討：医学と薬学53巻 6号：53 (6) 728-735. 2005
- 4) 鈴木義之 自己免疫性肝炎の最近の話題：治療学 Vol.42 No.1 55-60 2008
- 5) 鈴木義之 自己免疫性肝疾患 year note 2009 193-204.2009

##### 2. 学会発表

- 1) 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
- 2) 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

#### 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 UDCA 治療の評価

研究協力者 山本 和秀 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器・肝臓感染症内科学 教授

研究要旨：自己免疫性肝炎（AIH）の標準治療はステロイド剤及び免疫抑制剤投与であるが、一部の症例ではウルソデオキシコール酸（UDCA）単剤投与により肝炎の改善が得られることが報告されている。本研究では1）UDCA 単剤投与の治療効果、2）ステロイド剤との併用投与における UDCA の意義を明らかにすることを目的とした。初期治療として UDCA 300-600mg/日単剤投与を受けた症例の80%でトランサミナーゼの正常化が得られ、その後もトランサミナーゼの持続正常化の得られた症例ではプレドニゾロン（PSL）の併用なしで予後良好であった。しかし、UDCA 単剤投与では PSL 投与に比べてトランサミナーゼ正常化までに長期間を要した。また、PSL 漸減中に UDCA 併用投与を受けた症例では、再燃時における PSL 投与量が PSL 単剤投与群に比べて少量であり、PSL 7.5mg/日以上投与を受けていた期間における再燃率が低率であった。以上より、一部の症例で UDCA 単剤投与は有効であるが、その適応は肝予備能が十分保たれた肝炎の程度が軽い症例と考えられる。また、ステロイド剤の減量期間中に UDCA を併用することで早期の再燃を予防できる可能性が推測される。

## A. 研究目的

AIH ではステロイド剤や免疫抑制剤投与が標準治療であり、これらの治療により10年生存率90%以上と予後良好であることが報告されている。また、一部の臨床研究により UDCA 単剤治療により肝炎の改善や血清中 IgG 値の低下を認める症例の存在することが報告されている。本研究では、1）UDCA 単剤投与の治療効果、2）ステロイド剤との併用投与における UDCA の意義を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

対象は、AIH 診断後の初期治療として UDCA 300-600mg/日単剤投与を受けた25例（UDCA 群）、UDCA と PSL 20mg/日以上併用投与を受けた40例（PSL+UDCA 群）、PSL 20mg/日以上単剤投与を受けた68例（PSL 群）の3群。なお、初期治療によりトランサミナーゼの持続正常化の得られない症例では UDCA または PSL の追加投与を行った。

## C. 研究結果

AIH 診断時には、UDCA 群で年齢が高齢であり、生化学検査によるビリルビン・トランサミナーゼ・IgG が有意に低値であった（UDCA 群 vs PSL+UDCA 群 vs PSL 群、年齢：62(37-77)歳 vs 52(18-78)歳 vs 52(16-79)歳、ビリルビン：0.6(0.3-29.2)mg/dL vs 1.4(0.4-24.3)mg/dL vs 1.1(0.4-17.1)mg/dL、ALT：98(28-1433)IU/L vs 407(36-1450)IU/L vs 229(26-2161)IU/L、IgG：2134(1085-3970)mg/dL vs 2517(1300-4530)mg/dL vs 2663(1170-6562)mg/dL)。性別や急性発症例の頻度、自己抗体や HLA-DR4 の陽性率、肝生検による線維化には差を認めなかった。初期治療による血清中 ALT 正常化は、UDCA 群80%、PSL+UDCA 群95%、PSL 群94%で得られた。また、初期治療開始から血清中 ALT 正常化までの期間は UDCA 群で長期間であった。

UDCA 群のうち、血清中 ALT の正常化または ALT の持続正常を得られなかった10例では経過中に PSL の追加投与が行われた。他の15例では UDCA 単剤投与により血清中 ALT の持続正常化が得られ、肝発癌や肝不全死に至った症例はいなかった。

PSL 群のうち、5例で経過中に UDCA 追加投与が行われた。よって、治療経過中における PSL 漸減時には、55例で UDCA + PSL 併用投与、63例で PSL 単剤投与が行われた。両群で観察期間や AIH 診断時における年齢・性別、生化学検査によるビリルビン・トランサミナーゼ・IgG、自己抗体や HLA-DR4 の陽性率、肝生検による線維化に差を認めなかった。PSL 漸減時における再燃率に両群で差を認めなかった（57% vs 58%）が、再燃時に投与されていた PSL 一日投与量は PSL 単剤投与群で多かった。また、PSL 単剤投与群では、PSL 7.5mg/日以上投与中における再燃が UDCA+PSL 併用投与群に比べて高かった（21% vs 7%）。

## C. 考察

今回の検討では、初期治療として UDCA 単剤投与を受けた AIH 症例の80%でトランサミナーゼの正常化が得られた。また、67%の症例ではトランサミナーゼの持続正常化が得られ予後も良好であった。よって、AIH 症例の一部にはステロイド剤や免疫抑制剤の投与を行わなくても UDCA 単剤投与で治療可能な症例の存在していることが示唆された。しかし、ステロイド剤投与に比べて UDCA 単剤投与は治療開始時に肝炎の程度のより軽い症例で行われていたにもかかわらずトランサミナーゼ正常化までに長期間を要しており、肝炎の程度が高度な症例や肝予備能の低下した症例では UDCA 単剤投与でトランサミナーゼの正常化が得られるまでに肝不全へ進展することが危惧される。よって、初期治療としての UDCA 単剤投与の適応は、肝炎の程度が軽度で肝予備能の保たれた症例と



考えられる。

AIHはステロイド剤治療に良好に反応するが、投与量や投与期間が増すにつれて骨粗鬆症、肥満、糖尿病、感染症など副作用の頻度が高くなる。しかし、ステロイド剤の早期減量・中止はAIHの再燃を誘発し、再燃を繰り返すと肝不全や肝移植に至る可能性が高くなる。本研究では、PSL漸減中にUDCAを併用することでPSL漸減にともなう早期の再燃を予防できる可能性が示唆された。UDCAには、日常臨床で用いられる程度の濃度でT細胞からのIFN- $\gamma$ ・IL-2・IL-4、B細胞からの免疫グロブリン産生を抑制する効果の存在することがin vitroで示されている。AIHにおいてステロイド剤の漸減中に再燃予防を目的にUDCAを併用することは理にかなっていると考えられる。

UDCAをPSLに併用して投与する場合、どの時点からUDCAを開始すればよいかは明らかでない。本研究では、初期治療としてPSL単剤投与を受けた群とPSL+UDCA併用投与を受けた群との間にトランサミナーゼ正常化率に差がなかった。よって、PSL投与に初期からUDCAを併用する意義は少ないと思われる。一方、PSL漸減中に再燃した症例で再燃時に投与されていたPSLは15mg/日以下であった。よってPSLが20mg/日に漸減された時点でUDCA併用投与を開始するのが適当と推測される。

#### E. 結論

UDCA単剤投与でトランサミナーゼの正常化するAIH症例が認められるものの、UDCA単剤投与はステロイド治療に比べてトランサミナーゼ正常化までに長期間を要する。よって、その適応は肝予備能が十分保たれた肝炎の程度が軽い症例と考えられる。また、ステロイド剤の漸減期間中にUDCAを併用することで早期の再燃を予防できる可能性が推測される。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Miyake Y, Iwasaki Y, Terada R, et al : A model for estimating cirrhosis in patients with type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology Res* 38 (7) : 658-663, 2008.
- 2) Miyake Y, Yamamoto K : Current status of autoimmune hepatitis in Japan. *Acta Med Okayama* 62 (4) : 217-226, 2008.
- 3) Miyake Y, Iwasaki Y, Kobashi H, et al : Clinical features of antinuclear antibodies-negative type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology Res* In press, 2008.

##### 2. 学会発表

- 1) 三宅康広, 山本和秀 : 自己免疫性肝炎における診断と治療. 第44回日本肝臓学会総会, シンポジウ

ム. 松山, 2008.6.6

#### 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

# 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

## IgG4関連自己免疫性肝炎の検討

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）と診断されている患者の中に血清 IgG4高値、門脈域に著明な IgG4陽性形質細胞浸潤を認める症例をみつけ、IgG4関連自己免疫性肝炎という概念を提唱した。60例の AIH の中に2例（3.3%）IgG4関連自己免疫性肝炎と考えられる症例を認めた。ステロイド治療が効果的であり、従来 AIH と診断、治療してきた症例の中に IgG4関連自己免疫性肝炎が混在している可能性がある。病態、予後の解明のために多数例での検討が必要と考えられる。

### 共同研究者

梅村武司 信州大学医学部 内科学第二 助教  
浜野英明 信州大学医学部 内科学第二 助教  
全 陽 金沢大学医学部附属病院病理部 准教授  
中沼安二 金沢大学大学院医学系研究科  
形態機能病理学 教授

### A. 研究目的

われわれは自己免疫性肝炎（AIH）の中に血清 IgG4高値、肝内 IgG4陽性形質細胞浸潤が著明な症例があることを見つめ、IgG4関連自己免疫性肝炎という概念を提唱した（Gut 2007）。本研究では AIH 多数例における IgG4関連自己免疫性肝炎の陽性率、病態について検討を行うことを目的とする。

### B. 研究方法

信州大学医学部消化器内科で AIH と診断された症例の60例について血清 IgG4の測定、肝病理所見の検討、肝内 IgG4陽性形質細胞浸潤の程度について検討した。自己免疫性肝炎患者22例をコントロールとした。

### C. 研究結果

患者背景は AIH 60例と自己免疫性肝炎22例では AIH では女性が多く、ALT、AST、AIH スコアが有意に高値であった。自己免疫性肝炎では IgG4、IgE が有意に高値であった。HLA DR4の陽性率は両群とも6割で差はなかった。

AIH 60例中血清 IgG4が高値（ $\geq 135\text{mg/dl}$ ）を示した症例は4例あった。4例中2例で門脈域に IgG4陽性形質細胞の著明な浸潤（ $\geq 30/\text{HPF}$ ）を認めた。この2症例とも臍病変は認めなかった。1例は既に報告済みの患者でありもう1例は新たに発見された症例である。以上より IgG4関連自己免疫性肝炎は3%（2/60）の割合で存在することが判明した。

IgG4関連自己免疫性肝炎2例と通常の AIH 58例について比較検討すると IgG4関連自己免疫性肝炎では血清 IgG4、IgE が高値であった。

肝病理所見では IgG4関連自己免疫性肝炎では2例とも rosette formation と giant cell change を認めており IgG4陽性形質細胞の浸潤の程度も AIH だけでな

く自己免疫性肝炎の患者より高度であった。

治療としてはステロイド内服をされており肝機能検査値は改善しており血清 IgG4も改善して正常化していた。

### D. 考察

IgG4関連自己免疫性肝炎は当施設で AIH と診断された症例の中で3%の割合で存在することが分かった。IgG4関連自己免疫性肝炎は AIH の診断基準を満たすものの血清 IgG4高値、IgG4陽性形質細胞浸潤を認めており自己免疫性肝炎を含めた IgG4関連疾患の一つと考えられる。ステロイド治療が効果的であることから AIH としてそのまま診断、加療されてきた症例が存在することが示唆される。今後は多数症例で病態、予後の違いなどの検討が必要である。

自己免疫性肝炎の肝病理の検討でも interface hepatitis だけでなく lobular hepatitis が認められることがわかっており（Hepatology 2007）、今まで原因不明の肝炎（非 A-E 肝炎）と診断されていた症例の中に IgG4関連自己免疫性肝炎等が含まれている可能性もあり検討する必要がある。

### E. 結論

IgG4関連自己免疫性肝炎は AIH の中で3%存在しており、今後多数例での検討が必要である。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Yoshizawa K, Shirakawa H, Ichijo T, et al: De novo autoimmune hepatitis following living-donor liver transplantation for primary biliary cirrhosis. Clin Transplant 2008;22:385-390.
- 2) Umemura T, Ota M, Yoshizawa K, et al: Association of cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene polymorphisms with type 1 autoimmune hepatitis in Japanese. Hepatology Research 2008;38:689-695.

## 2. 学会発表

- 1) 梅村武司, 吉澤要, 一條哲也, 他: 新しい疾患概念: IgG4関連自己免疫性肝炎の臨床・病理学的検討. 第44回日本肝臓学会総会, 松山, 2008.
- 2) Umemura T, Zen Y, Hamano H, et al: Clinical Significance of Immunoglobulin G4-Associated Autoimmune Hepatitis in Japan. The 59th annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, 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

### 肝硬変の成因別実態からみた自己免疫性肝炎の位置づけ

分担研究者 恩地 森一 愛媛大学大学院先端病態制御内科 教授

**研究要旨：**平成20年6月に本邦における肝硬変の成因別実態の調査を行った。全国58施設から33,379人のデータを得た。肝硬変の成因のうち自己免疫性肝炎は約2%を占めていた。今回の調査では、自己抗体の出現が比較的高率であると報告されている非アルコール性脂肪肝炎（NASH）についても初めて調査した。NASHによる肝硬変では、抗核抗体が約37%で陽性であった。その抗体価は80%以上が80倍未満と低力価であった。今後は全国アンケート調査により、我が国の自己免疫性肝炎の実態について解析を行うこととしている。

#### 共同研究者

阿部雅則 愛媛大学大学院先端病態制御内科学  
眞柴寿枝 愛媛大学大学院先端病態制御内科学

表 全国集計による肝硬変の成因別頻度 (n=33,379)

HBV	13.90%
HCV	60.90%
HBV+HCV	1.20%
アルコール	13.60%
PBC	2.40%
AIH	1.90%
NASH 関連	2.10%
その他	4.00%

#### A. 研究目的

我が国の肝硬変の成因別調査を行い、自己免疫性肝炎の頻度を明らかにする。また、自己抗体の出現が比較的高率であると報告されているNASHについても調査を行い、自己抗体の出現率などについて解析した。

#### B. 研究方法

第44回日本肝臓学会総会主題ポスター「肝硬変の成因別実態」に応募があり、肝硬変の全国集計に回答が得られた施設の症例について解析した。施設間の診断の差をなくすため、応募にあたっての診断基準はあらかじめ規定した。

#### C. 研究結果

回答は全国58施設から得られ、症例数の合計は33,379例（男20,817例、女12,562例）であった。

- 1) 自己免疫性肝炎（AIH）の占める割合は、全体の1.9%、男性では0.4%、女性では4.3%であった。地域による差はみられなかった。
- 2) 肝細胞癌の有無で成因別頻度を解析すると、AIHの占める割合は肝細胞癌非合併例では3.1%、肝細胞癌合併例では0.6%であった。
- 3) NASHによる肝硬変例は717例で、全体の2.1%を占めていた。女性が6割であり、平均年齢は66.6歳であった。
- 4) NASH肝硬変のうち、抗核抗体は36.7%が陽性であった。陽性率は男性32.6%、女性37.2%であり、女性で高かった。
- 5) 抗核抗体陽性NASH例の抗体価は80%以上の症例で80倍未満であった。

#### D. 考察

本邦の肝硬変に占める自己免疫性肝炎の割合について明らかにした。今後は、全国アンケート調査により、自己免疫性肝炎の実態を詳細に検討していくこととしている。

また、今回はじめてNASHによる肝硬変の全国集計を行った。NASHによる肝硬変では36.7%に抗核抗体が出現していた。今後は、肥満と自己抗体出現との関連を含めて、多方面から自己抗体産生機序の解析が必要であると考えられた。

#### E. 結論

本邦の肝硬変の成因別実態の調査を行い、自己免疫性肝炎は全体の約2%であることを示した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 青柳豊, 西口修平, 道堯浩二郎, 徳本良雄, 恩地森一 本邦の肝硬変の成因と現状 第44回日本肝臓学会 主題ポスター「肝硬変の成因別実態」のまとめ 肝硬変の成因別実態2008, p1-10, 中外医学社
- 2) Abe M, Onji M. Natural history of primary biliary cirrhosis. Hepatol Res 38: 639-645, 2008.
- 3) Murata Y, Abe M, Hiasa Y, et al. Liver/spleen volume ratio as a predictor of prognosis in primary biliary cirrhosis. J Gastroenterol 43: 632-636, 2008.