

含む350例に対して追加調査を行った。現在、調査票を回収中であり、発癌に影響を与える因子を多変量解析し、発癌から見た肝内結石症の取扱いについて今後検討する予定としている。

八坂研究協力者は、長崎県上五島地域における肝内結石症の長期予後を検討した。生存例146例中、118例(80.8%)は良好な経過を示し、胆管癌や敗血症など肝内結石症関連の死亡は19例(8.6%)に認められた。治療後経過不良例や肝内胆管癌併発例は肝葉萎縮のある左葉あるいは両葉型が多く、遺残・再発結石や胆道再建術が高頻度に認められた。本症に対する不容易な胆道再建手術は慎むべきであり、また、肝葉萎縮を伴わない末梢型肝内結石症は経過観察が推奨されるとした。

(2) 診断・治療

榑野研究協力者は、過去10年間に治療経験のある肝内結石症60例のうち、胆道再検の既往がある20例(33.3%)の治療成績を検討した。胆道再建が施行された原疾患は先天性胆道拡張症が12例を占めていた。20例中3例に肝内胆管癌が併発していた。治療法はPTCSによる切石9例、小腸内視鏡を用いて切石を試みた症例1例、肝切除5例、胆管空腸吻合部切除+胆道再建1例、経過観察1例、胆管癌併発3例に癌の進展に応じた肝切除を施行した。肝内胆管癌を併発していた症例が1例癌死したが、他の19例は肝内結石症の再発なく健在である。

山上研究協力者は、肝内結石症の肝切除例の治療成績を検討した。手術術式は、従来は胆管消化管吻合が多く遺残結石率も60%前後あったが、最近5年では肝切除に加えてPTCSLなどの非観血的治療が増加し遺残結石率も4%にまで減少した。しかし、肝内結石に対する肝切除は通常肝切除術後に比較して創感染や腹腔内感染症の発生頻度が高く、これは胆汁中細菌検出率が高いことに起因するものと推定された。

露口研究協力者は、先天性胆道拡張症では術後に肝内結石を合併し胆管炎を併発する例はしばしば治療に難渋することがあることから、先天性胆道拡張症術後に肝内結石を合併した10症例について検討、考察した。その結果、先天性胆道拡張症術後に肝内結石を合併した症例は再発例が多くみられた。PTCSLはあくまで一時的な治療であり、再発予防には可能な限り肝切除を行うことが望ましいと考えられた。また、肝切除が困難で肝予備能が悪い症例は、肝移植が考慮される病態であるとした。

海野研究協力者は、先天性胆道拡張症で肝外胆管切除・胆道再建を行なった65例の長期予後、特に術後肝内結石の発症について検討した。術後肝内結石の発症は10例(15.9%)で、戸谷分類のIV-A型で最も高かった(38.9%)。術後肝内結石の発症までの平均期間は12.1年で、IV-A型では平均10.1年と短期間のうちに発症する傾向が認められた。術後肝内結石の危険因子をodds比から検討すると、「IV-A型」と「手術時年齢

30歳以上」が有意な因子であった。

(3) 発癌・治療

田妻研究協力者は、胆汁酸の長期間曝露が肝内胆管障害と発癌を惹起すると仮説し、胆汁成分中のリン脂質の胆管上皮細胞の増殖動態への影響を検討した。その結果、膵胆管合流異常において、リン脂質の分解産物として胆汁中に増加するリゾ・リン脂質がアポトーシスを惹起すること、さらにそのメカニズムとしてG-protein coupled receptorsの発現増強があることを示した。

中沼研究分担者は、胆汁中HSP27の胆管癌の腫瘍マーカーとしての有用性を検証した。胆石症(胆嚢・総胆管結石)12症例と肝門部～肝外胆管癌(肝内結石非合併例)13症例のPTCD胆汁中のHSP27濃度を測定した結果、HSP27は胆管癌において有意に高値を示し、カットオフ値を2.0ng/mlとした場合、胆管癌の腫瘍マーカーとしての感度は90.9%、特異度は78.6%であった。以上の結果からPTCD胆汁中のHSP27を測定することが、肝内結石症においても胆管癌を診断する上で補助診断の一つとなる可能性が示唆された。

正田研究協力者は、肝内胆管癌に対する分子標的治療としてSorafenibの有用性を示した。肝内胆管癌細胞に対するSorafenibは用量依存性に胆管癌細胞の細胞増殖を抑制し、細胞シグナル分子のMEKおよびMAPKの活性化を抑制した。また、用量依存性にアポトーシスを誘導し、アポトーシス抑制因子のmcl-1の発現が低下していた。Sorafenibは肝内胆管癌に対する新しい治療薬として有用である可能性が示された。

本多研究協力者は、胆汁中の遺伝子発現解析と胆道系悪性腫瘍における発現プロファイルの検討を行った。胆汁における遺伝子発現解析を試みたところ、microRNA(miRNA)はその抽出及び発現解析が可能であった。そこで胆道系悪性腫瘍群5例、非腫瘍群3例の胆汁を用いてmiRNAを抽出し、miRNA 380種につき発現を比較検討したところ、悪性腫瘍群で発現が変化するmiRNAが9種同定された。今後症例を蓄積することでマーカー候補となるmiRNAを抽出できる可能性が示唆された。

Ⅲ. 分 担 研 究 報 告

Ⅲ-1. 自己免疫性肝炎分科会

【ワーキンググループ (WG) 研究報告】

1. 診療指針の作成 WG
愛媛大学大学院 先端病態制御内科学 恩地 森一
2. 診断指針の作成 WG
東京慈恵会医科大学大学院 消化器内科 銭谷 幹男
3. 治療指針の作成 WG
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器・肝臓内科学 山本 和秀

【分担研究報告】

1. 自己免疫性肝炎の全国調査 (第一報)
愛媛大学大学院 先端病態制御内科学 恩地 森一
2. 自己免疫性肝疾患における COX-2, osteopontin, FOXP3 遺伝子プロモーター領域の SNP 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
3. 自己免疫性肝炎におけるサイトカインネットワークとサイトカイン遺伝子多型
信州大学医学部 内科学第二 吉澤 要
4. 自己免疫性肝炎モデルにおける肝内 NKT 細胞の動態解析
東京慈恵会医科大学大学院 消化器内科 銭谷 幹男
5. 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 消化器・リウマチ膠原病内科 大平 弘正
6. 自己免疫性肝炎の診断：新スコアシステムの検討
国際医療福祉大学 塩谷病院内科 森實 敏夫
7. 小児自己免疫性肝炎の診断 新スコアシステムの検討
済生会横浜市東部病院こどもセンター 藤澤 知雄
8. 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
9. 自己免疫性肝炎の予後に関わる宿主要因の検討
虎の門病院分院 臨床検査部 鈴木 義之
10. 自己免疫性肝炎におけるアルファ・フェトプロテイン (α -fetoprotein; AFP) 上昇に関する研究
新潟大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器内科学 青柳 豊
11. 自己免疫性肝疾患における新規自己抗体の探索
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器・肝臓内科学 山本 和秀

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

自己免疫性肝炎分科会

分担研究報告書

診療指針の作成 WG 報告

研究分担者 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：自己免疫性肝炎（AIH）の診療指針の作成を目的として、ワーキンググループ研究を行った。本年度は、診療上問題となりうる病態についての実態調査を行い、以下の結論を得た。1）急性肝炎例は血清学的には診断困難例が多く、高度黄疸例では予後不良である。2）家族内発症は稀である。3）IgG4関連 AIH については症例数の集積と診断クライテリアの設定が必要である。4）肝硬変患者では肝細胞癌の合併も念頭におく必要がある。

共同研究者

青柳 豊 新潟大学大学院消化器内科
広石和正 昭和大学消化器内科
吉澤 要 信州大学消化器内科
阿部雅則 愛媛大学大学院地域医療学

A. 研究目的

自己免疫性肝炎（AIH）は、疾患概念の周知と免疫抑制療法を主体とした治療法の確立により、診断・治療に苦慮することは少ない。一方で、非典型例や新しい疾患概念の提唱、肝細胞癌の増加など新たな診療上の問題も明らかとなってきた。本ワーキンググループでは、このような症例についての実態を明らかにするとともに、日常診療に有用な診療指針を作成することを目的とする。

B. 研究方法

調査研究項目は、1）急性肝炎・重症肝炎例の病態と病像、2）家族内発症、3）薬物・健康食品の使用、4）IgG 4 関連 AIH、5）肝細胞癌を含めた悪性腫瘍の合併、6）血清パネルの作成、とした。

本年度は、1）～5）について、「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」班員の所属施設に調査用紙を送付し、回答のあったものについての解析を行った。本調査は愛媛大学医学部附属病院倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

1）急性肝炎例・重症肝炎例についての調査（恩地）

診断時に肝生検が施行されていたのは230例であり、このうち、急性肝炎は35例（15.2%）であった。急性肝炎例は、慢性肝炎・肝硬変例に比し、血清 IgG 2g/dl 以下、抗核抗体陰性・低力価（80倍未満）の占める割合が多かった。35例中33例でステロイド治療が行われ、半数以上の症例でパルス療法も行われていたが、6例が死亡した。

肝疾患関連死亡例は20例であり、死因は肝不全死が18例であった。死亡例の診断時 T.Bil は、 19.7 ± 10.2 mg/dl であり、T.Bil 10mg/dl を超える症例は予後不良であった。

2）家族内発症についての調査（広石）

自己免疫疾患の家族内発症は18例（6.0%）で、このうち AIH は2例のみであった。本邦の既報告例の検索でも9例しかなく、AIH の家族内発症は非常に稀と考えられた。また、家族内発症に共通した特徴は明らかではなかった。

3）薬物・健康食品の使用についての調査（広石）

診断時の薬物使用は多岐にわたっていた。診断時に UDCA, SNMC などの肝庇護療法は12.0%に行われていた。他の薬物としては、アムロジピンの使用が最も多かった（23例）。健康食品は9例（3.0%）で摂られていた。

4）IgG4関連 AIH についての調査（吉澤）

信州大学では2例の IgG4関連 AIH がみられ、同大学の AIH 症例の約2%であった。最近、近畿大学・京都大学から血清 IgG4正常範囲内で、軽度の IgG4陽性形質細胞浸潤のみがみられる症例について報告があったが、このような症例を含めて診断のクライテリアを確立するには、多数例での解析が必要である。

5）悪性腫瘍の合併についての調査（青柳）

今回の調査では、5例の HCC 合併例があり、1例は HCV-RNA 陽性であり除外した。頻度は1000 patients-years あたり6.5例であった。HCC 合併例は、非合併例と比し、平均年齢が 70.5 ± 6.8 歳と高齢であり、診断時の肝硬変の割合（3/4例）が高かった。肝細胞癌以外の悪性腫瘍は21例にみられ、乳癌、胃癌、大腸・結腸癌が多かった。

6）血清パネルの作成（恩地）

診断基準や測定方法、値等の国際標準化を目指す目的で、AIH 症例の血清パネルを作製する。自己免疫性肝炎分科会班員の所属する11施設の AIH 典型例の血清を愛媛大学にて保存する。本年度は、本研究について愛媛大学医学部附属病院倫理委員会の承認を受けた。

D. 考 察

今回の調査では、既報と同様に急性肝炎例では血清学的検査で診断することが困難であることが示された。一方、死亡例は高度黄疸を有しており、診断・治療の遅れが問題となる。今後は、劇症肝炎分科会とも

協力して、このような症例についての診療方針を確立したい。

また、AIHにおいても肝硬変からの肝細胞癌の発生がみられる。今後は、画像検査を含めた肝細胞癌のスクリーニングの方法についても確立していくことが必要である。

IgG4関連 AIH については、現時点での症例が非常に少ないことから、今後はこのような症例の集積を行い、その病像・病態を明らかにしていく必要がある。

E. 結 論

本ワーキンググループでは、AIH 診療において問題となりうる病態についての実態調査を行った。今後は、この調査をもとに、診療指針の作成を行っていく予定である。

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 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）

自己免疫性肝炎分科会

分担研究報告書

診断指針の作成 WG 報告

研究分担者 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：日常診療での自己免疫性肝炎（AIH）診断に有用な指針の作成を目標に、1）抗核抗体（ANA）の測定法による陽性率の差異、2）国際 AIH グループ（IAIHG）が作成した1999年版（従来型）、2008年版（簡易型）診断スコアリングシステムによる一致率の検討を行った。同一検体を用いて免疫蛍光染色（IF）、ELISA 法により ANA を測定すると、IF の方が ELISA より陽性率が高く、IF 力価が低い症例では ELISA では陰性となる場合があることが明らかとなった。また、従来型・簡易型システムによる診断一致率は必ずしも高くないが、従来型で確診、疑診の症例の80%は簡易型でも確診、疑診となり、両方それぞれが有用だが、症例によっては両方のスコアを参考に診断する必要があることが示された。

共同研究者

日比紀文 慶應義塾大学医学部 消化器内科
藤澤知雄 済世会横浜市東部病院こどもセンター
松崎靖司 東京医科大学霞ヶ浦病院 消化器内科
森實敏夫 国際医療福祉大学 塩谷病院

A. 研究目的

日常診療における AIH 診断に有用な診断指針作成のための基礎的検討として

- 1) 測定法による抗核抗体（ANA）陽性率の差異
- 2) 国際 AIH グループ（IAIHG）の従来型・簡易型診断スコアリングシステムによるスコアの相関、診断一致率

に関して検討を行った。

B. 研究方法

§ 測定法による抗核抗体（ANA）陽性率の差異

診断の確定した AIH 症例139例の血清を用い、ANA を次の3種類の方法で測定し、各測定法の陽性率、測定法間での一致率について検討した。

- 1) HEp-2細胞を用いた免疫蛍光染色（IF）（FLUORO HEPANA テスト：MBL 社）
- 2) ANA 対応リコンビナント抗原を固相化した ELISA（MESACUP ANA テスト：MBL 社）
固相化されているリコンビナントタンパク：
RNP（A, 70k）、SS-A（60k,52k）、SS-B, Sm, CENP-B, Scl-70, Jo-1, ds-DNA, ss-DNA
- 3) ANA 対応リコンビナント抗原と HEp-2細胞の核抽出抗原を固相化した ELISA（QUANTA Lite ANA ELISA：INOVA 社）

固相化されているリコンビナントタンパク：

RNP, SS-A, SS-B, Sm, Centromere, Scl-70, Jo-1, mitochondria（M-2）、ribosomal-P protein, PCNA, ds-DNA, histones

§ 従来型・簡易型診断スコアリングシステムによるスコアの相関、診断一致率

全国調査症例のうち、IAIHG が1999年に作成した

従来型、2008年に作成した簡易型の双方のシステムでスコアリングが可能なデータが得られた症例249例についてスコアリングし、スコアの相関を直線回帰、診断の一致率をカップスコアで解析した。

C. 研究結果

§ 測定法による抗核抗体（ANA）陽性率の差異

ANA 陽性率は、IF 法で93.1%、MESACUP 法で56.8%、QUANTA 法で79.1%だった。

IF 法と MESACUP 法の一一致率は63.3%で、IF 法で陽性でも MESACUP 法で陰性の症例が36.7%存在した。

IF 法と QUANTA 法の一一致率は78.4%で、IF 法で陽性でも QUANTA 法で陰性の症例が18.0%存在した。

MESACUP 法と QUANTA 法の一一致率は72.0%で、QUANTA 法で陽性でも MESACUP 法で陰性の症例が25.1%存在した。

IF 陽性/ELISA 陽性症例と IF 陽性/ELISA 陰性症例を比較すると、両群間で IF 染色パターンには有意な差を認めないが、ELISA 陰性群では IF 力価が80倍以下の症例が多かった。MESACUP 法では IF 力価40倍、80倍の50%、160倍の25%、320倍の42%、640倍の17%、1280倍以上の0%が陰性だった。一方、QUANTA 法では IF 力価40倍の36%、80倍の17%、160倍の19%、320倍の0%、640倍の8%、1280倍以上の0%が陰性だった。

§ 従来型・簡易型診断スコアリングシステムによるスコアの相関、診断一致率

両者のスコアの相関は、治療前後それぞれで有意差は認めたが、r-square は0.175、0.097で、ばらつきを認めた。また、診断一致率は、治療前のカップ値が0.263、治療後のカップ値が0.152といずれも低値であった。

治療前では、従来型では疑診とされた症例が、簡易型では確診または非診断例となる場合が多く、確診：疑診：非診断例の割合は、従来型では43.3%：47.8%：

8.9%であったのに対し、簡易型では53.6%：20.0%：26.3%で、非診断例が占める割合は簡易型の方が高かった。

また、従来型で確診、疑診であった症例の80%は簡易型でも確診、疑診となった。

D. 考 察

ANA の測定に関しては、ANA 対応抗原のリコンビナントタンパクのみを固相化した ELISA 法では、IF 法で陽性の症例も陰性となることがあり、特に IF 力価が低い症例ではそうした傾向を強く認めた。また、ANA 対応抗原のリコンビナントタンパクに HEp-2細胞の核抽出抗原を固相化した ELISA 法でも同様の傾向を認めたが、リコンビナントタンパクのみを固相化した ELISA と比較すると、IF 陽性例が陰性となる確率は低かった。したがって、ANA の測定法の選択に際しては、こうした点を留意すべきと考えられた。

従来型・簡易型診断スコアリングシステムの比較に関しては、従来型では確診、疑診とされた症例が簡易型システムで非診断例とされる可能性があり、特に ANA、IgG 値などが低い症例では、従来型スコアリングシステムも用いて診断する必要があると考えられた。

E. 結 論

AIH の診断に際しては、ANA 測定は IF 法を用いた方が望ましいと考えられた。

IAIHG のスコアリングシステムを用いる場合は、簡易型で非診断例とされた症例は、従来型のスコアリングも含めて総合的に診断することが望ましいと考えられた。

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 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）

自己免疫性肝炎分科会

分担研究報告書

治療WG報告

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・肝臓内科学 教授

研究要旨：自己免疫性肝炎における治療ガイドラインの作成に向けて検討を進めている。対象は、2009年度に施行した全国調査により集積された自己免疫性肝炎症例のうち「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班の班員が所属する施設で経験した症例とした。また、劇症肝炎分科会において2004年から2007年に集積された劇症肝炎症例と LOHF 症例のうち成因が自己免疫性肝炎（疑い含）と診断された症例についても検討した。UDCA 単剤治療が行われた症例は全体の298例中13.8%であり、主にトランスアミナーゼが低値の軽症例であった。また、UDCA 併用 PSL 治療群では PSL 単剤治療群に比べて PSL 維持量が少なく、より高い確率で PSL を中止できる可能性が示唆された。アザチオプリン投与については、PSL 減量に伴う再燃例における有効性と安全性が示されたが、投与初期には血球減少など副作用の出現に対しての注意が必要である。重症化例では、診断時の血清中ビリルビン値が予後予測因子として有用な可能性が示唆された。内科的治療による救命率は、診断時の血清中ビリルビン値が10.0mg/dl 未満で97%、10.0mg/dl 以上かつ20.0mg/dl 未満で76%、20.0mg/dl 以上で55%であった。診断時のビリルビンが10.0mg/dl 以上の症例では、肝移植を視野に入れた対応が必要と思われる。また、ステロイドパルス療法については、施行群と非施行群との間で予後に差を認めず、施行群39例中10%が感染症により死亡していた。ステロイドパルス療法施行時には感染症（特に、真菌感染）に注意が必要と思われる。劇症化例における内科的治療による救命率は23%であり、多変量ロジスティック回帰分析では診断時の肝萎縮、血小板数、プロトロンビン活性が予後因子として抽出された。新しい肝移植適応ガイドラインによる予後予測は、感度92%、特異度57%、正診率84%と良好であった。

治療ワーキンググループ

山本和秀 岡山大学消化器内科
大平弘正 福島県立医科大学内科学第二講座
鈴木義之 虎の門病院肝臓内科

A. 研究目的

自己免疫性肝炎は「慢性に経過する肝炎であり、肝細胞障害の成立に自己免疫機序が想定される」とされてきたが、国際診断基準の普及に伴い急性発症例や劇症肝炎例、抗核抗体陰性例など非典型例の報告が増加してきている。また、治療としてはコルチコステロイドが使用され治療反応性は良好であるが、治療中止により8割の症例が再燃するため長期間のコルチコステロイド治療を余儀なくされる。このため、骨粗鬆症や肥満、高血糖などコルチコステロイドの副作用が問題となる症例も多い。最近、自己免疫性肝炎におけるウルソデオキシコール酸（UDCA）の有効性が報告されており、コルチコステロイドとの併用により再燃の抑制やコルチコステロイド維持量の減量が可能となることが報告されている。そこで、現在のわが国における自己免疫性肝炎治療の現状を把握し、新しい治療ガイドラインを作成することを目的に検討を行っている。

B. 研究方法

2009年度に施行した全国調査により集積された自己免疫性肝炎症例のうち「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班の班員が所属する施設で経験した症例を対象に調査票による症例登録を各施設に依頼した。また、劇症化例については、劇症肝炎分科会において

2004年から2007年に集積された劇症肝炎症例と LOHF 症例のうち成因が自己免疫性肝炎（疑い含）と診断された症例についての検討を行った。

検討項目は、i) UDCA 治療の適応、ii) ステロイド治療中止可能例の抽出、iii) 免疫抑制剤の適応と問題点、iv) 重症化・劇症化例に対する治療法の確立、の4項目とした。なお、重症例の定義は、診断時に血清中トランスアミナーゼが正常値上限の10倍以上の上昇または血清中ビリルビンが5.0mg/dl を超える上昇を示した症例とした。

C. 研究結果

i) UDCA 治療の適応

調査対象症例のうち、UDCA 単剤治療は13.8%、プレドニゾロン（PSL）単剤治療は32.2%、PSL と UDCA 併用療法は49.7%で行われていた。UDCA 単剤治療が行われた症例では、PSL 投与が行われた症例に比べてトランスアミナーゼが低値であった。また、併用療法が行われた症例では、PSL 単剤治療が行われた症例に比べて20mg/日を超える PSL 維持量を要する割合が低く、PSL 治療を中止された症例の割合が多かった。

ii) ステロイド治療中止可能例の抽出

12例で PSL 治療が中止されていた。PSL 治療を中止された12例と継続された286例の間で年齢・性別・生化学検査・免疫学検査に有意な差は認められなかった。一方、UDCA 併用治療が行われた症例で PSL 治療を中止された症例の割合が多かった。

iii) 免疫抑制剤の適応と問題点

アザチオプリンの適応と問題点については、アザチオプリン投与15例における検討を行った。アザチオプリン投与理由としては、コルチコステロイド減量に伴う再燃が67%と最も多く、次いでステロイド精神病などコルチコステロイドの副作用が20%であった。アザチオプリン投与は93%で有効であり、全例でコルチコステロイド投与量の減量が可能であった。一方、アザチオプリンの副作用としては、血球減少は20%、嘔気が7%で認められ、嘔気を呈した1例でアザチオプリン投与が中止された。

iv) 重症化・劇症化例に対する治療法の確立

重症化例113例と劇症化例31例について検討を行った。

重症化例では、多変量ロジスティック回帰分析により診断時における血清中ビリルビン値 {per 1 mg/dl: odds ratio 1.17(1.03-1.34)} が予後因子として抽出された。診断時、血清中ビリルビンが10.0mg/dl未満の77例中97%が内科的治療により救命され、2例が死亡した。死亡した2例中1例は肝不全死であり、他の1例の死因は不明であった。血清中ビリルビンが10.0mg/dl以上かつ20.0mg/dl未満の25例中76%が内科的治療により救命され、2例が肝移植となり、4例が死亡した。死亡した4例中3例が肝不全死、他の1例が感染症死であった。血清中ビリルビンが20.0mg/dl以上の11例中6例55%が内科的治療により救命され、1例が肝移植となり、4例が死亡した。死亡した4例中1例が肝不全死、3例が感染症死であった。ステロイドパルス療法については、施行群と非施行群との間で予後に差を認めず、施行群39例中10%が感染症（特に、真菌感染）により死亡していた。また、初期治療としてのプレドニゾロン開始量については、0.8mg/kg未満で開始された52例中4例が肝移植または肝不全死となり、0.8-1.0mg/kgで開始された22例では肝移植または肝不全死に至った症例はいなかった。

劇症化例における内科的治療による救命率は23%であり、多変量ロジスティック回帰分析では診断時の肝萎縮、血小板数、プロトロンビン活性が予後因子として抽出された。新しい肝移植適応ガイドラインによる予後予測では、感度92%、特異度57%、正診率84%であった。また、ステロイドパルス療法や血漿交換、血液濾過透析による予後改善効果は認められなかった。

D. 考 察

UDCA 治療の適応・ステロイド治療中止可能例の抽出

軽症例の一部でUDCA単剤治療が有効な可能性がある。今後は、UDCA単剤治療の可能な症例の絞り込みとUDCA単剤治療が長期予後に及ぼす影響についての検討が必要と思われる。また、UDCA併用によりPSL維持量を少なくすることが可能と思われ、PSL治療による副作用の軽減に有効な可能性がある。免疫抑制剤の適応と問題点

コルチコステロイドの減量により再燃のみられる症例では、アザチオプリン投与が有効であり、安全性も比較的良好と考えられた。しかし、アザチオプリンの

代謝酵素であるチオプリンS-メチル転移酵素には遺伝子多型が存在し、低活性型のアリルを有する症例では薬物の組織中濃度上昇によりの血球減少など重篤な副作用が出現す可能性があり投与初期には特に注意が必要である。

重症化・劇症化例に対する治療法の確立

重症化例においては、診断時の血清中ビリルビン値単独でも予後因子として有用な可能性が示唆された。診断時ビリルビン<10.0 mg/dlの症例ではコルチコステロイド治療により予後良好と考えられる。診断時ビリルビン10.0~20.0mg/dlの症例ではコルチコステロイド治療による救命率76%であり、ステロイド治療への反応性が乏しい場合には肝移植の考慮が必要と思われる。診断時ビリルビン20.0mg/dl以上の症例では内科的治療による救命率55%であり、内科的治療と並行して治療開始時より肝移植の考慮が必要と思われる。また、ステロイドパルス療法を施行する際には感染症（特に真菌感染）の合併に十分な注意が必要である。劇症化例については、内科的治療による救命率は23%と不良であり、肝移植の適応判断が重要と思われる。今回の検討では、新しい肝移植適応ガイドラインによる正診率が84%と良好であり、このガイドラインに基づく予後予測の有用性が示された。

E. 結 論

本研究により、我が国における自己免疫性肝炎治療の現状把握が可能であった。今後、治療ガイドラインの確立に向けて検討を進めていく。

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

自己免疫性肝炎の全国調査（第一報）

研究分担者 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：日本の自己免疫性肝炎（AIH）の実態を明らかにする目的に、平成18-20年の新規診断症例を対象に全国調査を行った。アンケート調査には全国153施設（33.1%）より回答があり、1056例について解析を行っている。男女比は1：6.0と男性の占める割合が増加していた。診断時平均年齢は59.9±14.7歳と以前の調査と比較して高齢化していた。また、抗核抗体陰性例は11.5%にみられ、以前の調査と比べて増加していた。

共同研究者

阿部雅則 愛媛大学大学院地域医療学准教授
眞柴寿枝 愛媛大学大学院先端病態制御内科学助教
日浅陽一 愛媛大学大学院先端病態制御内科講師

A. 研究目的

自己免疫性肝炎（AIH）は難治性の肝疾患であり、その原因の検索や新しい治療法の開発にあたっては、我が国における実態を明らかにすることが重要である。今回、平成18年から20年の3年間に診断されたAIH症例を対象に全国集計を行った。

B. 研究方法

日本肝臓学会の理事、東西支部評議員が所属する施設（462施設）を対象にアンケート用紙を配布し、平成18年1月1日から平成20年12月31日にAIHと診断された症例数と実態について調査を行った。なお、本研究は愛媛大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得ている（愛大医病倫0811006号）。

C. 研究結果

回答は全国153施設から得られ、回収率は33.1%であり、症例数の合計は1,056例であった。

1) 性別は男性150例（14.2%）、女性906例（85.6%）であり、男女比は1：6.0であった（表1）。以前の調査（平成6年 [1：7.1]、平成9年 [1：6.4]）に比べると、男性の占める割合が増加していた。

2) 診断時年齢は59.9±14.7歳（中央値62歳）であり、以前（平成6年 [平均50.8歳]、平成9年 [54.1歳]）の調査に比べると、高齢化がみられた。男女とも60歳代をピークとする一峰性の年齢分布を示した（図1）。診断時年齢60歳以上の割合は57.7%であり、以前の調査（平成6年 [24.6%]、平成9年 [37.8%]）に比べて増加していた。

3) 肝組織学的検索は871例（82.5%）で行われており、その内訳は急性肝炎が95例（10.9%）、慢性肝炎が711例（81.6%）、肝硬変が56例（6.4%）であった（表2）。

4) 肝疾患歴を有したのは127例（12.0%）であり、HCV-RNA陽性例は33例（3.1%）であった。また、PBCの合併は17例（1.6%）にみられた。

5) 自己免疫疾患の合併は、慢性甲状腺炎（9.2%）、

シェーグレン症候群（7.2%）が多くみられた（表3）。

6) 自己抗体の陽性率は、抗核抗体88.5%、抗平滑筋抗体42.5%であった。抗核抗体陰性例（11.5%）が以前の調査（平成6年 [4.6%]、平成9年 [5.1%]）に比べると増加していた。また、抗ミトコンドリア抗体の陽性率は9.5%であった（表4）。

7) 肝硬変症例は56例（5.3%）であり、このうち5例（8.9%）で肝細胞癌の合併がみられた。肝細胞癌合併例は全例HCV陰性であった。

8) 悪性腫瘍の合併は53例（5.0%）にみられた。このうち肝細胞癌が14例（HBV既往感染、HCV感染を除外しているものは5例）と最多で、乳癌が7例、子宮・卵巣癌、胃癌、大腸癌が6例みられた（表5）。

9) 肝疾患関連死は20例（1.9%）にみられ、以前の調査（平成6年 [1.2%]、平成9年 [1.5%]）と同様であった。死亡症例ではステロイド有効例は2例（10%）のみであり、ステロイドパルスが12例、免疫抑制剤が3例で使用されていた。

D. 考察

我が国におけるAIHの実態調査は平成9年以来行われていなかったため、現状を把握する目的に全国集計を行った。今回は臨床背景を中心に解析した。

前回までの調査を比較して、男性・高齢者の占める割合が増加していた。また、組織診断での肝硬変の割合が前回調査（12.0%）より低下していた。この原因としては、疾患概念や診断基準が広く認知されたことにより、非典型例も含めて広く診断されるようになったこと、また、適切な治療が早期にされるようになったことが原因と考えられる。一方、抗核抗体陰性例が増加していることから、特異的マーカーの確立についての検討が必要であるとともに、日常診療においては組織学的検索を含めて専門医との連携が必要であると考えられた。

肝細胞癌の合併は全AIHの1.3%、肝硬変の8.9%にみられた。今回の調査は、最近3年間の新規診断例のみでの解析であり、肝細胞癌の合併や予後については、長期間の観察が必要と考えられた。

E. 結論

AIHの全国集計を行い、主に臨床背景について解析した。今回の調査の特徴として、男性患者比率の増

加と患者の高齢化があげられた。今後は、検査データや治療法などについて解析を行う予定としている。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Azemoto N, Abe M, Murata Y, et al. Early biochemical response to ursodeoxycholic acid predicts symptom development in patients with asymptomatic primary biliary cirrhosis. J Gastroenterol 44: 630-634, 2009.
- 2) Yoshida O, Abe M, Furukawa S, et al. A familial case of autoimmune hepatitis. Intern Med 41: 315-319, 2009.
- 3) 阿部雅則, 恩地森一: 自己免疫性肝炎 内科学書改訂第7版, 小川聡編, 中山書店, p244-247, 2009.
- 4) 阿部雅則, 恩地森一: 自己免疫性肝炎2009 自己免疫性肝炎の診断 肝胆膵 59: 7-12, 2009.

2. 学会発表

- 1) 多田藤政, 阿部雅則, 真柴寿枝, ほか: 簡易版国際診断基準による自己免疫性肝炎診断の問題点 第13回日本肝臓学会大会, 京都, 2009.

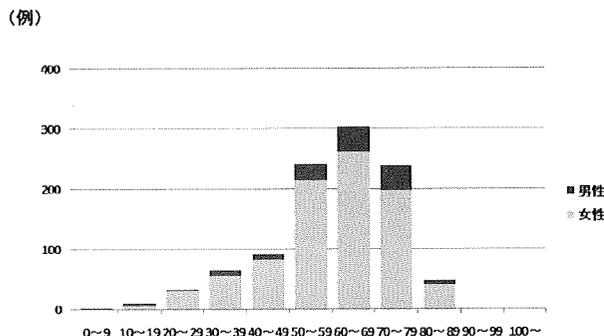
H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

(表1) アンケート回収結果

男女比	150 : 906 (1 : 6.0)
平成9年度	57 : 356 (1 : 6.3)
平成6年度	61 : 435 (1 : 7.1)
年齢	59.9 ± 14.7歳
平成9年度	54.2 ± 13.4歳
平成6年度	50.8 ± 12.7歳

(図1) 全症例の年齢分布(男女別)



(表2) 診断時の肝組織像

急性肝炎	10.9%(95例)
慢性肝炎	81.6%(711例)
肝硬変	6.4%(56例)
その他	1.0%(9例)

(表3) 自己免疫性疾患合併

疾患	症例数	%	平成2年調査
慢性甲状腺炎	97例	9.2%	9.8%
シェーグレン症候群	76例	7.2%	9.8%
関節リウマチ	30例	2.8%	9.7%
SLE	27例	2.6%	
PBC	20例	1.9%	0.4%
バセドウ病	16例	1.5%	
ITP	15例	1.4%	
Raynaud 現象	15例	1.4%	1.7%
強皮症	9例	0.9%	0.4%
自己免疫性溶血性貧血	4例	0.4%	
潰瘍性大腸炎	4例	0.4%	
その他	21例	2.0%	

(※) : リウマチ性関節炎を含む

(表4) 自己抗体陽性率

抗核抗体(40倍以上)	88.5%(913/1032)
抗平滑筋抗体(40倍以上)	42.5%(178/419)
AMA(20倍以上)	9.5%(64/672)
AMA M2抗体(<7 Index)	19.7%(112/569)

(表5) 悪性腫瘍合併例

	全症例中53例 (5.0%)
肝細胞癌	14例 (HBV既往感染,HCV感染を除外しているもの 5例)
乳癌	7例
子宮癌、卵巣癌	6例
胃癌	6例
大腸(直腸)癌	6例
その他	14例

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 COX-2, osteopontin, FOXP3 遺伝子プロモーター領域の SNP 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 准教授

研究要旨：COX-2は炎症、腫瘍形成、osteopontin (OPN)はTh1系の免疫誘導、FOXP3は免疫抑制にそれぞれ関わる因子である。それら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COX-2 (-1195A/G, -765G/C), OPN (-616G/T, -443C/T, -155G/-), FOXP3 (GTn)の多型で解析し、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。自己免疫性肝炎は健常コントロールと比べCOX-2, OPN, FOXP3の多型の頻度に差を認めなかった。しかし、AIH scoreのdefiniteとprobableの間でそれぞれCOX-2 -765G/Cのgenotypeとallele, OPN -616G/T及び-155G/-のgenotypeの多型の頻度に差を認めた。原発性胆汁性肝硬変でもsheuere I, II期とIII, IV期の間で同様な傾向を認めた。一方、ウイルス性肝疾患(C型肝炎)ではALT-Low (ALT<30IU/L), ALT-High (ALT≥30IU/L), LCと病期の進行程度で分類し比較検討したが同多型の頻度に差を認めなかった。また、COX-2 -1195A/Gの多型の頻度が自己免疫性肝炎と原発性胆汁性肝硬変がC型肝炎とgenotype, alleleで差を認めた。以上よりCOX-2 -1195A/Gは自己免疫性肝疾患とウイルス性肝疾患の病態の違い、COX-2 -765G/C, OPN -616G/T及び-155G/-の多型の違いは自己免疫反応と病態への影響の違いに関与している可能性が示唆された。

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。Osteopontin (OPN)はTh1系の免疫誘導にかかわり、一方FOXP3は免疫抑制に関わる因子である。本研究は、COX-2, OPN, FOXP3遺伝子プロモーター領域のDNA多型と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〔自己免疫性肝炎 (AIH) 38例 (AIH score definite 17例, probable 21例), 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) 32例 (PBC scheuer I, II期 20例, III, IV期 12例), C型肝炎 (HCV) 104例 (ALT-Low (ALT<30IU/L) 14例, ALT-High (ALT ≥30IU/L) 70例, LC 20例), 健常コントロール (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。統計は多重ロジスティック回帰を用い、年齢を調整し検定を行った。

(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

AIHはControlと比較しCOX-2, OPN, FOXP3の多型の頻度に差を認めなかった。AIH scoreにおけるdefinite(D)とprobable(P)の間ではCOX-2 -765G/Cのgenotypeとallele, OPN -616G/T及び-155G/-の

genotypeの多型の頻度に差を認めた (-765G/G vs G/C : p=0.026, -765G vs C : p=0.029, -616T/T vs G/T vs G/G : p=0.027, -155G/G vs G/- vs -/- : p=0.008)。PBCもsheuere I, II期とIII, IV期の間でAIHと同様な傾向を認めた (-765G/G vs G/C : p=0.029, -765G vs C : p=0.033, -616T/T vs G/T vs G/G : p=0.088, -155G vs - : p=0.083)。加えてPBCではControlと比べ-1195 A/G多型の頻度に差を認めた (-1195A/A vs A/G vs G/G : p=0.038)。一方、HCVはAIH, PBC, Controlに比べ-1195A/Gのgenotype, alleleともに多型の頻度に差を認めた (-1195A/A vs G/A vs G/G : HCV vs AIH p=0.007, HCV vs PBC p=0.003, HCV vs Control : p=0.005)。HCVにおいて慢性肝炎 (ALT-Low, ALT-High), LCと病期の進行程度で分類し解析を行ったが、AIH, PBCで見られた多型において病態間で頻度の差を認めなかった。

D. 考察

COX-2 -1195A/Gの多型の頻度がAIH, PBC, ControlとHCVの間で差を認めており、またPBCとControlでもgenotypeで差を認めることから各肝疾患の病態の違いに影響を与えている可能性が考えられた。COX-2 -765G/C, OPN -616G/T, -155G/-においては、AIH, PBCの病態間で多型の頻度に差を認めることから自己免疫反応や炎症の程度の違いに影響を与えている可能性が示唆された。

E. 結論

自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、C型肝炎の病態の違いにCOX-2プロモーター領域 -1195A/Gの多型が影響を与えている可能性が考えられた。また自己免疫反応や炎症の程度の違いにCOX-2 -765G/C, OPN -616G/T, -155G/-の多型が関与している可能

性が示唆された。

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. *Hepatology* 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.
- 3) Magnitude of CD8+ T-cell responses against hepatitis C virus and severity of hepatitis do not necessarily determine outcomes in acute hepatitis C virus infection. Doi H, Hiroishi K, Shimazaki T, Eguchi J, Baba T, Ito T, Matsumura T, Nozawa H, Morikawa K, Ishii S, Hiraide A, Sakaki M, Imawari M. *Hepatology* 39: 256-265, 2009.
- 4) Infection of B cells with hepatitis C virus for the development of lymphoproliferative disorders in patients with chronic hepatitis C. Inokuchi M, Ito T, Uchikoshi M, Shimozuma Y, Morikawa K, Nozawa H, Shimazaki T, Hiroishi K, Miyakawa Y, Imawari M. *J Med Virol* 81: 619-1627, 2009.
- 5) Strong CD8+ T-cell responses against tumor-associated antigens prolong the recurrence-free interval after tumor treatment in patients with hepatocellular carcinoma. Hiroishi K, Eguchi J, Baba T, Shimazaki T, Ishii S, Hiraide A, Sakaki M, Doi H, Uozumi S, Omori R, Matsumura T, Yanagawa T, Ito T, Imawari M. *J Gastroenterol* in press, 2010.

2. 学会発表

- 1) 自己免疫性肝疾患及びウイルス性肝炎における免疫応答関連遺伝子のDNA多型の解析. 坂木理, 広石和正, 牧野鈴子, 馬場俊之, 江口潤一, 土肥弘義, 井廻道夫. 第44回日本肝臓学会総会
- 2) 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, 土肥弘義, 広石和正, 井廻道夫. 第45回日本肝臓学会総会
- 3) 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」
- 4) 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

- 5) Cyclooxygenase-2 gene promoter haplotypes affect susceptibility to hepatitis C virus infection and the disease progression. Sakaki M, Makino R, Hiroishi K, Ueda K, Imawari M. The Liver Meeting 2009, The 59th 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

自己免疫性肝炎におけるサイトカインネットワークとサイトカイン遺伝子多型

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）の疾患感受性には遺伝的要因が関与し、複数の疾患関連遺伝子の存在が示唆されている。一方、AIHの病態には免疫異常が深く関与し、多くのサイトカインが相互に影響を受けながら動員（サイトカインネットワーク）されている。それを網羅的に解析し、遺伝子多型と病態との相関について検討した。AIH急性期においては多種類のサイトカインが増加し、お互いに影響を及ぼしながら（ネットワーク）病態を形成している。さらに、サイトカイン遺伝子多型とAIHの病態や疾患感受性が関連していることが示唆された。

共同研究者

梅村武司 信州大学医学部 内科学第二 助教
城下 智 信州大学医学部 内科学第二 大学院
上條 敦 信州大学医学部 内科学第二 大学院

A. 研究目的

自己免疫性肝炎（AIH）の疾患感受性には遺伝的要因が関与し、HLA-class II 抗原が重要な役割を果たすこと、さらに複数の疾患関連遺伝子の存在が示唆されている。一方、AIHの病態には免疫異常が深く関与し、多くのサイトカインが相互に影響を受けながら動員（サイトカインネットワーク）されている。それらを網羅的に解析し、さらにサイトカイン遺伝子多型と疾患感受性や病態との相関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50例について20種類の血清サイトカイン量を急性期と治療後でLuminex 100を用いて同時測定し、また、コントロールと比較した。さらに、急性期に有意に増加していたIL-12p40の産生量と関連すると報告されているIL-12B 3' UTR (1188A/C)の単遺伝子多型(SNP)解析についてAIH 115例、健常人104例を対象にDirect sequence法を用いて行い、重症例と非重症例の比較や、phenotypeごとのIL-12p40産生量の比較検討を行った。

C. 研究結果

Th1系、Th2系の多くのサイトカインがAIHの急性期には上昇しており、治療により炎症が治まると健常人のレベルまで低下していた。しかし、症例によりTh1/Th2のバランスは異なっていた。この中で明らかに有意差をもってIL-12p40が急性期に高値であり治療後低下していた。このため、IL-12の遺伝子多型の検討を行った。IL-12高産生となるIL-12B 3' UTR (1188A/C) C/CはAIH 27.8% vs. control 19.2%, C/AはAIH 54.8% vs. control 47.1%, 低産生となるA/AはAIH 17.4% vs. control 33.7%であり、phenotype C (C/CあるいはC/A)を持つものは、controlに比較して、OR

2.41, $P=0.0056$ で有意にAIH患者に多く認められた。しかし、血清IL-12 p40量 (AIH急性期40例：平均740pg/ml, 治療後：平均195pg/ml, 健常人：平均215pg/ml) とphenotypeは必ずしも一致はしていなかった。また、疾患重症度とIL-12 p40遺伝子多型との相関は明確ではなかった。

D. 考 察

IL12 p40は、IL12 p35とのヘテロ2量体としてIL12を構成し、IL23 p19とのヘテロ2量体としてIL23を構成している。IL-12の最も重要な生理機能は、NK細胞、T細胞、樹状細胞からのIFN-g産生を誘導し、ナイーブT細胞をTh1細胞に分化するのを促進することである。IL23は、Th1/Th2 paradigmでは説明できない免疫現象に対する新たな制御機構と考えられるIL17産生細胞(Th17)の誘導に関連している。今回の検討において、AIHの病態-炎症、細胞障害-にIL-12p40が関与し、さらにAIH疾患感受性にIL-12 p40の遺伝子多型が関与している可能性が示唆された。しかし、個々の症例における、IL-2, IFN-g, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10などのサイトカインの動向は複雑であり、血清IL-12 p40量との単純な相関では病態は説明できないと思われた。今後、replication studyや、症例数を増やしてIL-12 p40に関連するIL23やIL17など他のサイトカインや、サイトカインやその受容体の遺伝子多型も併せて検討し、サイトカインネットワークとして解析する必要があると思われた。さらに、今後は遺伝子多型に関してはgenome-wide association study (GWAS)での網羅的な解析が必要と考えられる。

E. 結 論

AIH急性期においては多種類のサイトカインが増加し、お互いに影響を及ぼしながら（ネットワーク）、病態を形成している。さらに、サイトカイン遺伝子多型とAIHの病態や疾患感受性が関連してい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) 吉澤 要, 一條哲也, 梅村武司, 太田正穂 自己免疫性肝炎の発症と重症度の規程因子 遺伝性素因 (HLA, その他) の観点から 自己免疫性肝炎2009 肝胆膵 59:19-26 2009
- 2) 梅村武司, 浜野英明, 一条哲也, 吉澤 要, 田中榮司 IgG4関連自己免疫性肝炎 自己免疫性肝炎2009 肝胆膵 59:93-99 2009
- 3) 梅村武司, 吉澤 要, 田中榮司, 太田正穂 CTLA4遺伝子多型と肝疾患 (ウイルス肝炎 / PBC/AIH) SNP が変える肝胆膵診療 肝胆膵 59:1201-1205 2009
- 4) Joshita S, Umemura T, Yoshizawa K et al. A2BP1 as a novel susceptible gene for primary biliary cirrhosis in Japanese patients. Human Immunol 2010 in press

2. 学会発表

- 1) 吉澤 要, 城下 智, 梅村武司, 他: 自己免疫性肝炎における IL-12 p40遺伝子多型の検討. 第45回日本肝臓学会総会, 神戸, 2009
- 2) 城下 智, 梅村武司, 吉澤 要, 他: 原発性胆汁性肝硬変におけるマイクロサテライト解析の検討 第45回日本肝臓学会総会, 神戸, 2009
- 3) 梅村武司, 吉澤 要, 上條敦他: 自己免疫性肝炎の新しい診断基準について 第45回日本肝臓学会総会, 神戸, 2009

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

自己免疫性肝炎モデルにおける肝内 NKT 細胞の動態解析

研究分担者 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：樹状細胞と高分化型肝癌細胞の融合細胞と IL-12 投与により作製した自己免疫性肝炎（AIH）モデルの肝内 NKT 細胞動態を解析した。本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、肝内では炎症期に NKT 細胞の増加を認め改善期に低下した。増加した NKT 細胞は活性化しており、IFN γ 産生を認めたが IL-4 産生はなかった。また、炎症期には肝内樹状細胞、クッパー細胞の CD1d 発現増加を認めた。以上より NKT 細胞が本モデルの病態形成に関与すると考えられた。

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
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
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 助教

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（FC）を投与し、その後 IL-12 を投与すると、肝細胞特異的 T 細胞活性化をともなう肝炎が誘導される。このモデルでは、肝細胞特異的 CTL による肝細胞障害がおこるが、FC 投与のみでは肝細胞障害はおこらず、IL-12 投与により各種接着分子の発現、ケモカイン・ケモカイン受容体などの発現増強による肝内免疫環境変化が肝炎発症に必須である。また、このモデルでは肝炎は day 21 に極期となるが（肝炎期）、自然経過で day 23 には改善する（改善期）（Clinical Immunology 117:280 - 293, 2005）。

昨年までの研究で、同モデルにおいては FoxP3 陽性・CD25 陽性の制御性 T 細胞が、肝炎期の肝内で増加することを明らかにし報告した。

本研究では、FC 投与前、肝炎期、改善期における肝内 NKT 細胞数の動態を FAX により検討した。また、NKT 細胞の活性化動態、サイトカイン産生プロファイルを、CD69 発現、細胞内 IFN γ 、IL-4 発現により検討した。さらに、NKT 細胞の活性化に関わる抗原提示細胞上の CD1d 分子の発現について、肝内クッパー細胞、樹状細胞を用いて検討した。最後に、本モデルの病態形成における NKT 細胞活性化の役割を解析する目的で、FC 投与後に NKT 細胞活性化作用を有する α GarCer を投与し、肝炎の活動性に及ぼす影響を検討した。

C. 研究結果

- (i) 肝内 NKT 細胞数は、無処置のコントロールに比し肝炎期で増加、回復期で減少し、逆に脾臓では肝炎期で減少、回復期に増加していた。
- (ii) 肝炎期に増加した NKT 細胞における CD69 の発現は増加しており、同細胞は IFN γ を産生していたが、IL-4 産生は認めなかった。
- (iii) 肝内のクッパー細胞、樹状細胞における CD1d 発現は、肝炎期で増加していた。
- (iv) FC 投与後に IL-12 の代わりに α GarCer を単回投与すると、IL-12 投与時と同様の肝細胞障害の増悪、肝内リンパ球浸潤の増加を認めた。また、 α GarCer のみの投与では、著明な肝細胞障害の増悪、肝内リンパ球浸潤の増加は見られなかった。

D. 考察

AIH の発症進展には、多くの種類の免疫担当細胞が複合的に関与すると考えられる。

これまでに、本モデルでは自己肝細胞障害性 CD8 の活性化により肝細胞障害が惹起されるが、自己免疫応答の誘導にともない肝内で制御性 T 細胞が増加して肝炎が沈静化することを明らかにし報告してきた。

今回、マウス肝内に豊富に存在する NKT 細胞に着目し、その動態解析を行ったところ、活性化し IFN γ を産生する NKT 細胞が肝炎期に肝内で増加していることが明らかにされた。また、NKT 細胞活性化に関わるとされる CD1d 分子の肝内抗原提示細胞上の発現が炎症期に増強していたことから、肝炎期では肝内 NKT 細胞がなんらかの機序で増量・活性化され、肝炎病態形成に関わる可能性が示された。

この NKT 細胞が肝細胞障害に直接関わるか、IL-12 のように肝内免疫環境の調節により肝細胞障害を増強するか不明であるが、FC 投与後に NKT 活性化作用を有する α GarCer を単回投与すると、FC 投与後に IL-12 を投与した際と同様またはそれ以上の肝炎が誘導されたことから、NKT 細胞が肝内免疫環境調節に関わり、病態形成に関与する可能性が示唆された。

E. 結論

AIH モデルにおいて、肝内 NKT 細胞が肝炎期に活性化され、IFN γ 産生を介して病態形成に関わるこ

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

C Saeki, M Nakano, H Takahashi, S Saito, S Homma, H Tajiri, M Zeniya. Accumulation of functional regulatory T cells in actively inflamed liver in mouse dendritic cell-based autoimmune hepatic inflammation. Clinical Immunology 2010 in press

2. 学会発表

第45回日本肝臓学会総会：発表（2009年5月）

第60回アメリカ肝臓学会：発表（2009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ヌ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 消化器・リウマチ膠原病内科 教授

研究要旨：これまで我々は、自己免疫性肝炎（AIH）患者において、ヌクレオソーム抗原に対する免疫寛容が破綻し、AIHの病態進展に関与している可能性を報告した。AIH患者では血清中抗ヌクレオソーム抗体価が有意に高値を示すが、今回、AIHの臨床的特徴やステロイドによる治療経過との関連を明らかにする中で、ヌクレオソームの病態進展への関与とその意義について評価した。ステロイド治療開始後にALTが正常化した症例で、治療前後での抗ヌクレオソーム抗体価の低下率を評価すると、低下率が35%未満の症例では、35%以上の低下率を示した症例に比べ、その後のステロイド減量に伴う再燃率が有意に高値であった。また、AIHの発症年齢が低く、発症時のIgGが高値を示す症例では、ステロイド治療後のヌクレオソーム抗体価の低下率が有意に低値を示した。これまでの結果から、ヌクレオソームに対する免疫応答がAIHの病態進展に関与している可能性があり、更に抗ヌクレオソーム抗体がAIH再燃の予測因子となる可能性が示唆された。

共同研究者

横川順子 福島県立医科大学
消化器・リウマチ膠原病内科

A. 研究目的

自己免疫性肝炎（AIH）の病態進展に関わる因子は十分に明らかでないが、我々はこれまで、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、出現したヌクレオソーム抗原に対する免疫寛容が破綻し、AIHの病態進展に関与している可能性を報告した。AIH患者では血清中抗ヌクレオソーム抗体価が有意に高値を示すが、今回、AIHの臨床的特徴やステロイドによる治療経過との関連を明らかにする中で、ヌクレオソームの病態進展への関与とその意義について評価することを目的とした。

B. 研究方法

AIH国際診断基準スコアで診断された患者において、血清中抗ヌクレオソーム抗体をELISAで測定した。ステロイド治療開始後2カ月でALTが正常化し、治療前と治療開始後2カ月での抗ヌクレオソーム抗体価を比較し得た15症例においては、抗ヌクレオソーム抗体価を評価し、AIHの臨床的特徴、ステロイド減量後の再燃との関連について評価した。

C. 研究結果

ステロイド治療開始後、ヌクレオソーム抗体価低下率が35%以上の5症例においては、その後のステロイド減量により再燃を認めず寛解を維持した。一方で低下率が35%未満の10症例においては、90%の症例で再燃を認め、再燃率は有意に高値を示した（ $P=0.002$ ）。ヌクレオソーム抗体価低下率35%以上と35%未満の症例において、AIH発症時の年齢、IAIHG score、生化学的所見を比較すると、AIHの発症年齢が低く、発症時のIgGが高値を示す症例では、ステロイド治療後のヌクレオソーム抗体価の低下率が有意に低い傾向にあった（ $P=0.014$, $P=0.04$ ）。

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亢進状態にあり、出現したヌ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ある。ヌクレオソームに対する免疫応答の結果、産生されると考えられる抗ヌクレオソーム抗体は、個々の患者の臨床経過の中で抗体価が変化する。今回、AIHの発症年齢が低く、発症時IgGが高値を示す症例では、ステロイド治療後のヌクレオソーム抗体価低下率が低い特徴を示し、このような症例では、AIHが再燃する可能性が高いことが示唆された。これまでの結果から、ヌクレオソームに対する免疫応答がAIHの病態進展に関与している可能性があり、更に、抗ヌクレオソーム抗体価低下率がAIH再燃の予測因子となる可能性がある。

なぜ肝細胞でアポトーシスが亢進し、免疫担当細胞はヌ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、今後の課題として十分検討していく必要がある。

E. 結 論

ヌクレオソームに対する免疫応答がAIHの病態進展に関与している可能性があると考えられた。更に、抗ヌクレオソーム抗体価がAIH再燃の予測因子とな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) 横川順子, 大平弘正, 他: 自己免疫性肝炎におけるヌクレオソームの病態進展への関与の解明. 第95回日本消化器病学会総会, 札幌, 2009

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：新スコアシステムの検討

研究協力者 森實 敏夫 国際医療福祉大学塩谷病院内科 教授

研究要旨：平成21年度に行われた自己免疫性肝炎の全国調査症例中解析に必要なデータが得られた自己免疫性肝炎249例を対象に、国際自己免疫性肝炎グループの1999年度版診断基準（旧基準）および2008年度版診断基準（新基準）の比較を行った。両者のスコアの相関はそれほど高くなかった。旧基準をゴールドスタンダードとすると、新基準の感度は78%であり、新基準ではある20%程度の見逃しが生じる可能性がある。多変量の3因子モデル、7因子モデルの感度は73%、97%であった。

共同研究者

横川順子 福島県立医科大学
消化器・リウマチ膠原病内科

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。

A. 研究目的

国際自己免疫性肝炎グループは1999年に発表した自己免疫性肝炎診断基準（1）を改定し、より単純化した診断基準を2008年に発表した（2）。この新診断基準を、全国調査で収集されたわが国の自己免疫性肝炎例に適用した場合の診断精度について検討した。さらに、昨年度報告した、3因子および7因子多変量モデルを用いた診断（3）についても検討した。

表1. 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	+1
	≥1.3	0
2. ALT	≥120	+2
	<120	0
3. AMA	<20倍	+2
	≥20倍	0

B. 研究方法

対象は平成21年度に行われた自己免疫性肝炎の全国調査症例中解析に必要なデータが得られた自己免疫性肝炎249例（女性216例、男性33例）、発症時年齢 中央値 58歳（範囲13～82）、調査時年齢 中央値62歳（範囲13～85歳）である。

表2. 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	+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

1999年度版診断基準（旧基準）および2008年度版診断基準（新基準）に従って、スコアを算出し、スコア間の相関を直線回帰で、確診（definite）、疑診（probable）、診断不能（undefined）の3分類の一致率をκスコアで検討した。また、全国調査例の旧基準の治療前スコアによる確診をゴールドスタンダードとして、新基準による診断の感度を算出した。

新基準では自己抗体（ANA, SMA, LKM, SLAのいずれか）陽性（40倍以上1点又は80倍以上または2個以上陽性2点）、血清IgG（正常上限超1又は正常上限1.1倍超2点）、肝組織が自己免疫性肝炎に一致（1点）典型的（2点）、肝炎ウイルス陰性（2点）で6点以上で疑診（Probable AIH）、7点以上で確診（Definite AIH）とする。

3因子モデルではスコア3以上で自己免疫性肝炎と診断し、7因子モデルではスコア6以上で自己免疫性肝炎と診断する。

3因子および7因子多変量モデルは表1、2に示す各項目で、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

全国調査例の旧基準の治療前スコアによる確診をゴールドスタンダードとして、これら2つの多変量モデルによる診断の感度を算出した。