

性尤度比、陰性尤度比を用いることによって、疾患オッズを扱えるなどの利点がある。しかし、本来の疾患空間は複数の疾患を含み、複数の疾患の鑑別が必要である。たとえば、D1からDnのn個の疾患を想定する必要がある場合、{D1, D2, …, Dn} は1つのパーティションを形成する。この中から、{D1, D2, D3} と3つの疾患の鑑別をすれば十分だと判断される場合、その前提に基づいて、それぞれの疾患の事後確率を算出し、その後で、鑑別すべき疾患D4を追加して、再度計算しなおすことも可能である。このように、複数の疾患を取り扱う方法が今後一般化すべきと考える。

今回は、AIH, PBC, CHCの3疾患のみの閉じられた空間で検討したが、複数の疾患の鑑別診断のモデルはAIHの診断に有用と考えられた。今後、さまざまな肝疾患での陽性率・陰性率を解析することにより、さらに診断精度を高めることができると考えられる。

また、B型肝炎、C型肝炎、A型肝炎やEBウイルス感染などはウイルスマーカーの結果が強く影響するので、事前確率を設定する時点では、それらの結果を踏まえ、AIH, PBCなどの事前確率は低く設定することになる。また、腹痛を訴えるなど、胆石や総胆管結石が疑われる場合にも、AIH, PBCなどの事前確率は低く設定することになるであろう。事前確率の設定は、Physician's index of suspicion 医師の診断確信度として、主観的に設定せざるを得ないのが現状であるが、今後、自覚症状や発症様式などに関する正確なデータが集積されれば、より客観的な数値を設定することも可能となるであろう。

また、事前確率を0から1までの数値で表して、その合計が1になるように配慮しなくても、相対的な関係が同じであれば、他の数値を用いても結果は同じになる。たとえば、上記の例3の場合、PBCの可能性が100とすると、CHCの可能性は1、AIHの可能性は20と言うような値を設定しても同じ様に計算することができる。

$$P(\text{AIH} \mid \text{スコア} < 3) = 0.076923 \times 20 / (0.076923 \times 20 + 0.097222 \times 1 + 0.9333337 \times 100) \approx 0.0162$$

$$P(\text{CHC} \mid \text{スコア} < 3) = 0.097222 \times 1 / (0.076923 \times 20 + 0.097222 \times 1 + 0.9333337 \times 100) \approx 0.00102$$

$$P(\text{PBC} \mid \text{スコア} < 3) = 0.9333337 \times 100 / (0.076923 \times 20 + 0.097222 \times 1 + 0.9333337 \times 100) \approx 0.982$$

すなわち、疾患の可能性を定量的に表すことが重要であり、必ずしも確率で表す必要はない。一番可能性の高い疾患を100として、それ以外の疾患の可能性を数値で表現しても構わないし、可能性の低い疾患を1として、それ以外の疾患をその何倍という考え方も構わない。

## E. 結 論

自己免疫性肝炎と原発性胆汁性肝硬変の診断のために開発された3因子加算モデルを、CHCを含めた3疾患の鑑別診断に用いることを示した。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

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

# 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：**自己免疫性肝炎（AIH）の病態は未だ解明されていない。今回はまず、自己免疫性疾患に関与することが報告されている follicular helper T 細胞（Tfh）に着目し、AIH 患者の PBMC 中の Tfh 頻度を測定した。Tfh は、慢性型 AIH 症例で低く、血清 IgG 値と逆相関していた。この結果は我々の予想と正反対であり、今後肝臓内 Tfh の評価が望まれる。次に、昨年度より継続している Concanavalin A（Con A）投与による自己免疫応答性急性肝障害モデルにおいて、CCR9陽性 macrophage がその病態形成に重要な役割を担っていることが判明した。すなわち、肝臓内には通常は CCR9陽性 plasmacytoid DC が豊富で免疫寛容状態を保っているが、Con A 投与により CCR9陽性 macrophage が増加し、免疫寛容の破綻が引き起こされた。

#### 共同研究者

海老沼浩利  
中本 伸宏  
楮 柏松  
山岸 由幸  
碓井 真吾  
梅田瑠美子  
石橋 由佳  
金井 隆典  
斎藤 英胤

#### A. 研究目的

自己免疫性肝炎（autoimmune hepatitis; AIH）は、抗核抗体等の自己抗体が陽性で血清中の免疫グロブリン高値を特徴とする肝炎と、その特徴的な所見こそ診断基準に呈示されているが、その全容は解っていない<sup>1)</sup>。とりわけ、AIH の原因として肝細胞に存在する自己抗原に対する免疫反応と推測されているが、その自己抗原すら一部しか解明されていないのが現状である。一体何が自己免疫なのか、ただステロイドや免疫抑制剤が著効するため言っているだけではないのか、という疑問に立ち向かうべく、我々は AIH の病態と予後の解明を目指して、3年間の長期的な研究計画を立て、研究を続行してきた。すなわち、

##### (1) 慶應義塾大学関連病院における AIH の診断と治療成績

これは、現在 AIH と診断されている症例を集積し、その中から特徴的な所見を見出すことを目的とする。

##### (2) AIH 患者の免疫動態の解析

当院で診断された AIH 患者の末梢血単核球（PBMC）、血清、肝生検組織を用いて、AIH 患者の免疫学的特徴を解析する。

##### (3) AIH モデル投与マウスを用いた自然免疫・獲得免疫の研究

今までに AIH のモデルマウスと言われてきた系を免疫学的側面から解析し、その実態を究明する。

昨年度までに、我々は AIH 患者の PBMC の

flowcytometry、肝生検組織の免疫染色から、AIH 特に急性発症型における制御性 T 細胞（Treg）の減少と IL-17産生の Th17細胞の増加を報告してきた。さらに、AIH 患者の血清中のサイトカイン/ケモカイン濃度を測定すると、急性発症型 AIH では IL-17に加えて、MIP-1a、MIP-1b 濃度が増加していたことから、AIH の発症に獲得免疫に加えて自然免疫系の関与も考えられた。また、AIH モデルと言われてきた Concanavalin A（Con A）肝炎は MyD88 knockout mice ではその肝炎が減弱した。Flowcytometry による解析で、MyD88 knockout mice では肝内 CD11b+CD11c- cells の増加が少なかったことから、その発症に macrophage が関与していると考えられた。以上より、AIH の発症には自然免疫と獲得免疫のクロストークが重要であると考えられ、現在研究を継続中である。

本年度は、(a) 自己免疫性疾患に関与していると推測されている、近年提唱されたヘルパー T 細胞の一つである follicular helper T cells（濾胞性ヘルパー T 細胞、Tfh）<sup>2)</sup> に着目し、AIH 患者末梢血中の Tfh についての解析 (b) 自己免疫応答性急性肝障害、すなわち Con A 肝炎の病態形成における CCR9<sup>3)</sup> 陽性マクロファージの役割に焦点をあてて研究を行った。

#### B. 研究方法

##### (a) AIH 患者末梢血中の Tfh についての解析

当院にて AIH と診断された未治療症例 6 症例、AIH-PBC overlap 症例 2 症例及び比較対象として急性ウイルス性肝炎、C 型慢性肝炎、健康人から PBMC を回収し、flowcytometry により Tfh（CD3+ CD4+ CXCR5+ cells）の頻度を測定、臨床データと比較検討した。

##### (b) 自己免疫応答性急性肝障害の病態形成における CCR9 陽性マクロファージの役割

6 - 8 週齢の雄性 C57BL/6マウスを用い、Con A の静脈内投与により自己免疫応答性急性肝障害（免疫破綻）を惹起し、PBS 投与群（免疫寛容）と比較検討した。単核球を肝臓及び脾臓分離後 CD11b+CD11c-macrophage、CD11b-CD11c+ plasmacytoid DC

(pDC), CD11b+CD11c+ classical DC (cDC) の形態, 頻度, 表現型, Toll 様受容体 (TLR) の発現, サイトカイン産生能を検討した。さらに各分画を FACS Aria を用いて分離した後, 卵白アルブミン (OVA) ペプチドを特異的に認識する TCR を有した DO.11.10 × RAG-2<sup>-/-</sup> マウス由来 naïve CD4 T 細胞と OVA 抗原刺激下で 5 日間共培養し, CD4 T 細胞の増殖能 (CFSE), Th1, Th17 細胞の誘導能, Foxp3<sup>+</sup> 制御性 T 細胞の誘導能を評価した。

### C. 研究結果

#### (a) AIH 患者末梢血中の Tfh についての解析

疾患別の解析では, 慢性型の AIH では, 他の疾患や健常人と比較して PBMC 中 Tfh の頻度が低い傾向にあったが, 急性発症型の AIH ではその傾向が見られなかった。一方で, Treg は AIH において他の疾患や健常人と比較して低い傾向にあり, 前回までの報告と一致していた。また, Tfh の頻度は血清 ALT 値, IgG 値と逆相関する傾向にあった。さらに, 急性発症型 AIH 症例を経時的に観察すると, 治療に伴って Tfh の頻度が低下する傾向にあった。一方で, PBMC 中の CXCR5 陽性 memory B 細胞の頻度は, 血清 IgG 値と相関していた。

#### (b) 自己免疫応答性急性肝障害の病態形成における CCR9 陽性マクロファージの役割

CCR9+pDC は抑制性表現型を有し, 定常状態において肝臓内に豊富に存在し免疫寛容に関与している可能性が示唆された。Con A 投与後 CCR9+pDC は減少する一方で CCR9+ macrophage が CCL25 の発現上昇に伴い肝内に遊走し, 同細胞は① CD80, CD86 などの補助刺激分子の発現, ② LPS 刺激下の TNF- $\alpha$  産生能, ③ TLR4/6 の発現, ④ naïve CD4 T 細胞への抗原提示能, ⑤ Th1 (IFN- $\gamma$  産生) 細胞の誘導能といった免疫応答性特徴を有していた。急性期自己免疫性肝炎患者の末梢血の検討においても CCR9+CD16<sup>+</sup> 単球が慢性肝炎群, 健常群と比較し有意に増加しており, 同細胞が病態形成に関与している可能性が示唆された。(投稿中)

### D. 考 察

AIH は, 自己免疫が関与していると推測されているが, まだその実態は解明されていない難治性肝疾患である。本年は, まず最近自己免疫性疾患特に B 細胞活性化と関係している Tfh について, PBMC を用いて解析した。当初の推測とは異なり, PBMC 中の Tfh は通常慢性型 AIH で低く, 血清中 IgG 値とも逆相関していた。まだ, 症例数が少ないため推測の域を超えないが, PBMC の Tfh は肝臓内のミラーイメージをみている可能性もあり, 今後症例数を増やし更なる検討を続ける必要がある。

Con A 肝炎を自己免疫応答性急性肝障害と称することには, まだ異論があるが, 免疫寛容が破綻を来した時にどのような免疫応答が引き起こされるかどうかは興味深い。今回, CCR9 陽性マクロファージがその

肝障害において重要な役割を示すことが解明された。このことは, 将来 CCR9 をターゲットとした治療に応用できる可能性が示唆された。

### E. 結 論

今回の研究から, ① AIH 患者の PBMC 中の Tfh 頻度は, 慢性型 AIH で低く, 血清 IgG 値と逆相関していた②自己免疫応答性急性肝障害では CCR9 陽性マクロファージがその病態形成に重要な役割を担っていた, ことが解明された。今後も引き続き AIH の病態解明に向けて更なる検討を続ける必要がある。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Ojiro K, Ebinuma H, Nakamoto N, Wakabayashi K, Mikami Y, Ono Y, P-S Chu, Usui S, Umeda R, Takaishi H, Yamagishi Y, Saito S, Kanai T, Hibi T. MyD88-dependent pathway accelerates the liver damage of Concanavalin A-induced hepatitis. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 399: 744-749

2) 尾城啓輔, 海老沼浩利, 若林寛二, 中本伸宏, 碓井真吾, 梅田瑠美子, 楮柏松, 山岸由幸, 金井隆典, 齋藤英胤, 日比紀文. マウス自己免疫性肝炎モデルにおける TLR シグナルを介した Kupffer 細胞の初期関与の可能性. *消化器と免疫* 2010; 46: 197-199

#### 2. 学会発表

1) Imbalance between T helper type 17 and T regulatory cells play a role in the pathogenesis of autoimmune hepatitis. Nakamoto N, Ebinuma H, Umeda R, Usui S, Ojiro K, Yamagishi Y, Saito H, Hibi T. The 2nd International Forum 第96回日本消化器病学会総会 2010年4月, 新潟

2) 急性発症重症型自己免疫性肝炎に対する治療—移植か内科的治療か—. 碓井真吾, 海老沼浩利, 山岸由幸, 楮柏松, 梅田瑠美子, 尾城啓輔, 齋藤英胤, 日比紀文. 第36回日本急性肝不全研究会 2010年5月, 山形

3) マウス肝臓内免疫担当細胞の免疫寛容への関与. 中本伸宏, 海老沼浩利, 楮柏松, 梅田瑠美子, 碓井真吾, 尾城啓輔, 山岸由幸, 齋藤英胤, 金井隆典, 日比紀文. 第47回日本消化器免疫学会総会 2010年7月, 大津

4) 急性発症型の自己免疫性肝炎 (AIH) の病態と治療. 海老沼浩利, 齋藤英胤, 日比紀文. シンポジウム5 自己免疫性肝胆道疾患: 最近のトピックス 第14回日本肝臓学会大会 (JDDW 2010) 2010年10月, 横浜

5) マウス Plasmacytoid DC の免疫寛容への関与. 中本伸宏, 海老沼浩利, 楮柏松, 梅田瑠美子, 碓

井真吾, 尾城啓輔, 山岸由幸, 齋藤英胤, 金井隆典, 日比紀文. 第38回日本肝臓学会東部会 2010年12月, 東京

6) 肝臓免疫寛容・破綻におけるCCR9陽性マクロファージのTolerance breakerとしての役割. 中本伸宏, 海老沼浩利, 金井隆典, 楮柏松, 小野雄一, 三上洋平, 碓井真吾, 土井知光, 齋藤英胤, 日比紀文. 第18回浜名湖シンポジウム 2010年12月, 浜松

#### 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) Czaja AJ & Manns MP. Advances in the diagnosis, pathogenesis, and management of autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 2010; 139: 58-72
- 2) Yu D, Rao S, Tsai LM, et al. The transcriptional repressor Bcl-6 directs T follicular helper cell lineage commitment. *Immunity* 2009; 31: 457-68
- 3) Hadeiba H, Sato T, Habtezion A, et al. CCR9 expression defines tolerogenic plasmacytoid dendritic cells able to suppress acute graft-versus-host disease. *Nat Immunol* 2008; 9: 1253-60

# 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難治例の解析

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：**自己免疫性肝炎（Autoimmune hepatitis :AIH）患者における難治要因には大きく分けて二つのパターンが存在する。すなわち、早期に診断がつかず、治療開始が遅れてしまう症例や治療薬の選択に難渋するような確定診断困難症例がまずあげられる。次に治療開始後も治療反応性が不良である症例と経過中の再燃をきたす治療抵抗例とがある。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い報告してきた。今年度はその結果を踏まえ上記の因子を解析し、治療効果別に比較することで、より診断、治療に有効な宿主側の要因を見いだすことを目標とした。

#### A. 研究目的

当院通院中の118例の AIH 患者のうち難治例症例と判断される症例は図 1 に示すように診断困難例45例、治療困難例21例が抽出される。診断困難例においては大きく4群に分け、これらの症例をここに解析し、より確実な診断をつけることで早期の診断、治療に結び付けられると考えている。免疫抑制療法を行うことでの目的は AIH 患者の肝臓の炎症を消退させ、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、治療困難例において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。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、治療反応性により治療法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を行った。その上で、今後の治療指針を検討し、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

1979年から2007年までの28年間に当院で type-I の AIH と診断された症例は118例存在する。このうち78例（66%）は、1999年の国際診断基準の scoring で definite と診断され、残る40例（34%）が probable であった。昨年度より引き続き複数回の肝生検を行いその組織学的変化を検討するとともに、全例 HLA のタイピングを行った。治療反応性についてはこれまでと同様 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、銀染色と D-PAS 染色を行った標本を 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例とした。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。また、可能な限り HLA のタイピングを行い特に DR 抗原原の検討を行った。

#### C. 研究結果

急性発症例を鑑別するため HLA 別の検討を行った結果を図 2 に示す。70症例において検討を行っているが、HLA-DR による発症形式の差異は認められなかった。他の背景因子では急性発症群は ALT が高値であり、IgG が低いという従来の結果と差はなかった。

次に AIH-PBCoverlap 症例についての検討ではこの二つの疾患の特徴を併せ持つ症例を決定的に区別することはかなり困難であるが決め手となるのはやはり組織学的特徴から判断すべきと考えられる。PBC の SNP について最近報告があるが今後はこのような遺伝子学的検討を加えることでより明確な結果が出てくる可能性はある。

また、所謂 C+AIH 症例については IL-28を測定し、治療困難例では IFN を優先すべきでないとの結果を得たが症例数が少なく今後の検討が必要な事項と考える。

最後に昨年度も報告しているため図表の提示は省略するが、この治療反応性から組織学的変化を 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。また、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。

#### D. 考察

当院で長期に渡る観察を行った AIH118症例中の66例の難治例についての検討を行った。宿主因子として genome 解析も行ってきたが今年度はまだその十分な解析ができていない。このため今年度は HLA を含めた宿主因子とその組織学的変化を中心に報告した。免疫抑制療法が奏功し肝酵素の安定化が得られ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、そこに宿主因子である HLA による差があることは今後の治療方法を検討する上で興味深い事実である。つまり、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。また、再燃した症例を今後さらに詳しく検討することで、漸減していく過程で有力な情報となるような指標がないかについても解析していくことがより肝要と思われる。

また、所謂 C+AIH 症例については現在最も有効な治療効果予測因子である IL-28 を測定することで HCV 排除を優先するか否かの判断をした上で治療に臨むことも可能であり、今後さらに genome の解析を行っていく予定である。

### 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。その重要な因子の一つとして HLA 抗原による治療反応性が重要な役割を持つことが示された。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Suzuki Y, et al. Association of HLA-DR14 with Treatment Response in Japanese Patients with Autoimmune Hepatitis. Dig Dis Sci 2010 55 2070-2076

2) 自己免疫性肝疾患 Year note 2011 Selected Articles P191-203

#### 2. 学会発表

JDDW2010日本肝臓学会大会シンポジウム5-6追2自己免疫性肝炎非定型例の診断と治療 2010.10.13 横浜

### 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 自己免疫性肝炎難治例の内訳

AIH 118例	診断困難例 45例	確定診断例	73例	著効	52例	
		急性発症	11例		不応	7例
		AIH-PBC overlap	18例		再燃	14例
		C + AIH	8例		治療困難例	
		非B非C	8例			

表2 発症様式からみた背景因子の比較

	AIH慢性 経過群	AIH急性 発症群		AIH慢性 経過群	AIH急性 発症群
症例数	107	11	症例数	62	8
ALT	92 (22-234)	387 (256-2640)	HLA- DR4	45 (72.6%)	5 (62.5%)
IgG	2658 (2310-4632)	2220 (1858-2940)	HLA- DR8	11 (17.7%)	2 (25%)
組織学的 確診度	38/41 (92.7%)	8/11 (72.7%)	HLA- DR15	19 (30.6%)	3 (37.5%)

HLAによる有意差はなし

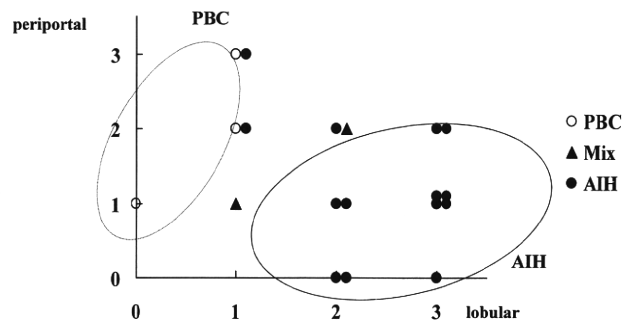


図1 炎症の局在から見た各疾患群の位置付け

# 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抗 HLA 抗体に関する研究

研究協力者 青柳 豊 新潟大学大学院医歯学総合研究科 消化器内科 教授

**研究要旨：**原疾患が自己免疫性肝炎（AIH）以外で肝移植に至った症例に、AIH 類似の病態がグラフト肝に生じることが知られている。組織学的、血清学的に AIH に類似するため de novo AIH と呼称されるが、非自己であるグラフト肝に起こる現象であるため、自己免疫機序ではなく、拒絶反応であるとする考え方が主流になりつつある。そのような臓器移植後の拒絶反応には HLA に対する抗体の関与が示唆されているものの、AIH における抗 HLA 抗体については不明である。本研究において、AIH 発症時には血清中に抗 HLA 抗体が高頻度で検出されること、更に HLA DNA typing と Luminex 法（Single Antigen）による解析により、抗 HLA class II 抗体陽性例には自己 HLA class II allele に対する抗体陽性例が存在していることが確認された。肝細胞は IFN- $\gamma$  などにより HLA class II 分子の発現が誘導されることが報告されており、このような自己の HLA class II 分子に対する抗体の存在が、AIH の発症・進展に関与しているかどうか更に検討が必要と考えられた。

#### 共同研究者

山際 訓 新潟大学大学院 消化器内科学 助教

#### A. 研究目的

自己免疫性肝炎（autoimmune hepatitis; AIH）の原因や進展には自己免疫機序が想定されているものの、多くの分子生物学的知見の集積や技法の進歩にもかかわらず、その発症に関する免疫機序の詳細は依然として不明の域を脱していない。

一方、原疾患が AIH 以外で肝移植に至った症例に、AIH 類似の病態がグラフト肝に生じることが知られている。組織学的、血清学的に AIH に類似するため de novo AIH と呼称されるが、非自己であるグラフト肝に起こる現象であるため、自己免疫機序ではなく、拒絶反応であるとする考え方が主流になりつつある。そのような臓器移植後の拒絶反応には HLA に対する抗体の関与が示唆されているものの、AIH における自己 HLA に対する免疫応答の検討は行われておらず、抗 HLA 抗体についても不明である。本研究では AIH における抗 HLA 抗体について検討することを目的とした。

#### B. 研究方法

2003年1月から2010年12月までに新潟大学医歯学総合病院、当科関連病院および順天堂大学医学部附属静岡病院にて診断および治療され、かつインフォームド consent が得られて発症時に保存されている血清が使用可能であった AIH37例、急性肝炎（acute hepatitis; AH）20例、劇症肝炎（fulminant hepatitis; FH）11例を対象とし、保存血清（-20℃）を用いて Luminex 法により抗 HLA class I および class II 抗体と、non-HLA 抗原である MICA に対する抗体を Luminex 法（LABScreen Mixed）にて測定した。抗 HLA class II 抗体陽性例については、Luminex 法（LABScreen Single Antigen）により allele 特異性を確認するとともに HLA DNA typing を施行した。

#### C. 研究結果

##### (1) 症例の背景

男：女比は AIH 5：32, AH12：8, FH 5：6。平均年齢は AIH 55.8±17.2歳, AH 45.0±17.5歳, FH 45.5±19.2歳であった。

AH の原因は B 型肝炎ウイルス（HBV）関連（急性肝炎、慢性肝炎急性増悪）8例、薬物性10例、不明2例であり、FH の原因は HBV 関連4例、薬物性3例、不明4例であった。

##### (2) 血液生化学検査

AIH の ALT 値（Mean ± SD）は415.5±421.6 IU/l（range, 39-1852）、総ビリルビン値は8.2±8.7mg/dl（range, 0.8-25.9）、プロトロンビン時間（PT）は INR が1.32±0.47（range, 0.86-2.72）であった。

##### (3) 抗 HLA 抗体検査

1つの蛍光ビーズに精製 HLA 抗原が数パネル分ずつコートされている Mixed kit を用いた Luminex 法による解析では、AIH では抗 HLA class I 抗体が83.8%、抗 HLA class II 抗体が67.7%で陽性であり、特に抗 HLA class II 抗体は AH 55.0%、FH 36.3%の陽性率と比較して高率であった。

1つの蛍光ビーズに1種類の精製 HLA 抗原がコートされている Single Antigen kit を用いた Luminex

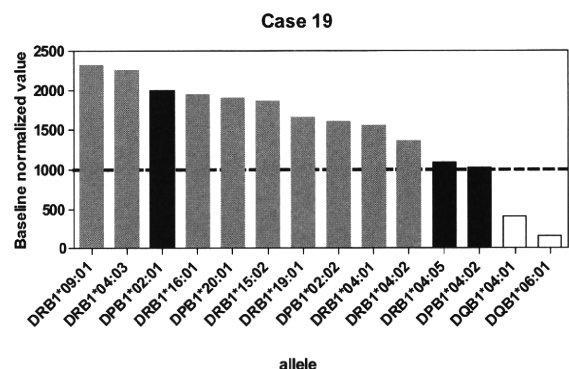


図1 抗 HLA class II 抗体陽性例の allele 特異性

法による allele 特異性の検討により, AIH における抗 HLA class II 抗体陽性例には多数の allele に対する抗 HLA class II 抗体が検出される症例が認められ, HLA DNA typing により自己の HLA class II allele に対する抗体が存在していることが確認された (図 1. 黒塗り)。

#### D. 考 察

ヒトの臓器移植において, 拒絶反応を引き起こす抗体には抗血液型抗体と抗 HLA 抗体などがある。抗 HLA 抗体は, HLA 精製抗原を用いた抗体検査が一般的になり, 拒絶反応への関与が詳細に検討されつつある。

一般的に抗 HLA 抗体は, 移植や輸血, 妊娠など自己以外の抗原に暴露された既往歴のある患者に多いとされるが, 腎移植患者の場合, 抗 HLA class I 抗体陽性症例は女性, 出産, 輸血に関係し, 抗 HLA class II 抗体陽性症例は移植腎機能の悪化に関係しているとの報告がある。

HLA class II 分子は DR, DQ, DP に分類され, マクロファージや樹状細胞, 活性化 T 細胞, B 細胞などの抗原提示細胞を含む限られた細胞にのみ発現しているが, 各種サイトカインなどによりその発現が誘導され, 肝細胞においても IFN- $\gamma$  により発現が誘導されることが報告されている。本研究で AIH 患者血清中に自己 HLA class II 分子に対する抗体が認められたことは, class II 分子を発現した肝細胞に対する抗体補体反応や抗体依存性細胞傷害を惹起し, AIH の肝細胞傷害に関与しうる可能性があると考えられた。今後は妊娠・出産歴や輸血歴との関連とともに, 肝組織における HLA class II 分子の発現を確認し, AIH 病態における抗 HLA 抗体の意義について結論したい。

#### E. 結 論

AIH 発症時には血清中に抗 HLA 抗体が高率に検出され, HLA DNA typing と allele 特異性の検討により自己 HLA class II allele に対する抗体の存在が確認された。今後, AIH 病態における抗 HLA 抗体の意義について更に検討する必要があると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tamura Y, Igarashi M, Suda T, Wakai T, Shirai Y, Umemura T, Tanaka T, Kakizaki S, Takagi H, Hiasa Y, Onji M, Aoyagi Y. Fucosylated fraction of alpha-fetoprotein as a predictor of prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after curative treatment. *Dig Dis Sci*. 2010; 55(7): 2095-101.
- 2) Tamura Y, Igarashi M, Kawai H, Suda T, Satomura S, Aoyagi Y. Clinical advantage of

highly sensitive on-chip immunoassay for fucosylated fraction of alpha-fetoprotein in patients with hepatocellular carcinoma. *Dig. Dis. Sci*. 2010; 55(12): 3576-83.

- 3) Osaki A, Kubota T, Suda T, Igarashi M, Nagasaki K, Tsuchiya A, Yano M, Tamura Y, Takamura M, Kawai H, Yamagiwa S, Kikuchi T, Nomoto M, Aoyagi Y. Shear wave velocity is a useful marker for managing nonalcoholic steatohepatitis. *World J. Gastroenterol*. 2010; 16(23): 2918-25.
- 4) Takamura M, Yamagiwa S, Wakai T, Tamura Y, Kamimura H, Kato T, Tsuchiya A, Matsuda Y, Shirai Y, Ichida T, Ajioka Y, Aoyagi Y. Loss of liver-intestine cadherin in human intrahepatic cholangiocarcinoma promotes angiogenesis by up-regulating metal-responsive transcription factor-1 and placental growth factor. *Int. J. Oncol*. 2010; 36(1): 245-54.
- 5) Korita P, Wakai T, Shirai Y, Matsuda Y, Sakata J, Takamura M, Yano M, Sanpei A, Aoyagi Y, Hatakeyama K, Ajioka Y. Multidrug resistance-associated protein 2 determines the efficacy of cisplatin in patients with hepatocellular carcinoma. *Oncol. Rep*. 2010; 23(4): 965-72.
- 6) Ohkoshi S, Yamagiwa S, Yano M, Takahashi H, Aoki YH, Matsuda Y, Aoyagi Y. Very-low-dose pegylated interferon  $\alpha$  2a plus ribavirin therapy for advanced liver cirrhosis type C: a possible therapeutic alternative without splenic intervention. *Case Rep. Gastroenterol*. 2010; 4(2): 261-6.
- 7) Kobayashi M, Narisawa R, Sato Y, Takeuchi M, Aoyagi Y. Self-limiting risk of metachronous gastric cancers after endoscopic resection. *Dig. Endosc*. 2010; 22(3): 169-73.
- 8) Yamamoto T, Morita S, Go R, Obata M, Katsuragi Y, Fujita Y, Maeda Y, Yokoyama M, Aoyagi Y, Ichikawa H, Mishima Y, Kominami R. Clonally expanding thymocytes having lineage capability in gamma-ray-induced mouse atrophic thymus. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2010; 77(1): 235-43.
- 9) Kawai H, Nomoto M, Suda T, Kamimura K, Tsuchiya A, Tamura Y, Yano M, Takamura M, Igarashi M, Wakai T, Yamagiwa S, Matsuda Y, Ohkoshi S, Kurosaki I, Shirai Y, Okada M, Aoyagi Y. Multicentric occurrence of hepatocellular carcinoma with nonalcoholic steatohepatitis. *World J. Hepatol*. 2011; 3(1): 15-23.
- 10) Mizuno KI, Kudo SE, Ohtsuka K, Hamatani S, Wada Y, Inoue H, Aoyagi Y. Narrow-banding images and structures of microvessels of colonic



lesions. *Dig. Dis. Sci.* 2010 Dec 28. [Epub ahead of print]

- 11) Aoyagi Y, Tamura Y, Suda T. EDITORIAL. History and recent progress in evaluation of the fucosylated alpha-fetoprotein fraction. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2011 (in press)

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

### AIH 例の血清中可溶性 CTLA-4値と臨床像の関連

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：**強直性脊椎炎やSLE患者で血清中可溶性CTLA-4値と疾患活動性との関連が報告されている。今回、自己免疫性肝炎（AIH）患者と健常人において、サンドイッチELISA法により血清中可溶性CTLA-4値の測定を行った。結果として、AIH例と健常人の間で、血清中可溶性CTLA-4値に差を認めなかったが、組織学的に慢性肝炎・肝硬変と診断されたAIH例では急性肝炎と診断された症例に比べ血清中可溶性CTLA-4値が高値であった。一方、AIH例では、血清中可溶性CTLA-4値とトランスアミナーゼ値やIgG値、抗核抗体価に関連を認めなかった。以上より、AIHにおいては、血清中可溶性CTLA-4値が疾患の慢性化を反映している可能性が推測された。

#### 共同研究者

三宅 康広 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科  
消化器・肝臓内科学

#### A. 研究目的

Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4) は活性化T細胞表面に出現する補助刺激分子であり、B7ファミリーに対してCD28の約20倍の強さで結合することによりCD28とB7ファミリーの結合を競合的に阻害しT細胞の活性化を抑制することが知られている。また、CTLA-4には可溶性が存在し、強直性脊椎炎やSLE、慢性甲状腺炎患者の血清中では健常人に比べて可溶性CTLA-4値が高値を示すことが報告されている。しかし、自己免疫性肝炎（AIH）例における血清中可溶性CTLA-4値については十分な報告がない。

#### B. 研究方法

AIH30例と健常人10例を対象として、血清中可溶性CTLA-4値をサンドイッチELISA法にて測定した。なお、AIH例の血清は治療開始前に採取・凍結保存されたものを使用した。

#### C. 研究結果

AIH例と健常人の間で、血清中可溶性CTLA-4値に有意差を認めなかった。しかし、組織学的に慢性肝炎・肝硬変と診断されたAIH例では、急性肝炎と診断された症例に比べて血清中可溶性CTLA-4値が高値であった。一方、血清中可溶性CTLA-4値はトランスアミナーゼ値やIgG値、抗核抗体価と関連していなかった。

#### D. 考察

可溶性CTLA-4の役割については、①CD28とB7ファミリーの結合を競合的に阻害することによりT細胞の活性化を抑制する作用と②活性化状態にあるT細胞表面のCTLA-4とB7ファミリーの結合を競合的に阻害することによりT細胞の活性化が抑制されるのを阻害する作用の2つの可能性が推測されるが、十

分には解明されていない。

血清中可溶性CTLA-4値と疾患活動性については、様々な結果が報告されている。強直性脊椎炎患者やSLE患者においては、血清中可溶性CTLA-4値と疾患活動性が有意に相関していると報告されている。また、バセドウ病患者では、眼症状の程度と血清中可溶性CTLA-4値が関連していることが報告されている。一方、慢性関節リウマチの治療薬としてヒトCTLA4の細胞外領域とIgG1Fc領域との融合蛋白であるアバタセプトが発売されており、アバタセプトはMTX抵抗性活動性慢性関節リウマチ患者を対象とした無作為化比較試験においてプラセボに比較し疾患活動性を有意に低下させたと報告されている。

今回のAIH例における検討では、血清中可溶性CTLA-4値とトランスアミナーゼ値の間に関連を認めなかった。しかし、急性肝炎例に比べ慢性肝炎・肝硬変例で血清中可溶性CTLA-4値が上昇していたことから、AIH例の血清中可溶性CTLA-4は疾患の慢性化を反映している可能性が考えられた。よって、AIHにおいては、血清中に存在する可溶性CTLA-4が活性化状態にあるT細胞表面のCTLA-4とB7ファミリーの結合を競合的に阻害することによりT細胞の活性化状態の維持に関与している可能性が推測された。

#### E. 結論

AIH例においては、急性肝炎例に比べて慢性肝炎・肝硬変例で血清中可溶性CTLA-4値が高値であった。血清中可溶性CTLA-4値は、AIHの慢性化を反映している可能性が推測された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Miyake Y, Iwasaki Y, Kobashi H, Yasunaka T, Ikeda F, Takaki A, Yamamoto K. Clinical features of autoimmune hepatitis diagnosed based on simplified criteria of the International

Autoimmune Hepatitis Group. Dig Liver Dis. 2010;42(3):210-5.

- 2) Miyake Y, Iwasaki Y, Kobashi H, Yasunaka T, Ikeda F, Takaki A, Yamamoto K. Autoimmune hepatitis with acute presentation in Japan. Dig Liver Dis. 2010;42(1):51-4.

## 2. 学会発表

- 1) 三宅康広, 高木章乃夫, 山本和秀: SIRS の評価は劇症肝炎における肝移植のタイミング決定に重要である. 第38回日本肝臓学会東部会, 東京, 2010
- 2) 三宅康広, 安中哲也, 池田房雄, 高木章乃夫, 小橋春彦, 山本和秀: 劇症肝炎に対する肝移植の適応決定には肝不全の重症度に加えて全身状態の評価が重要である. 第46回日本移植学会総会, 京都, 2010
- 3) 高山裕基, 三宅康広, 能祖一裕, 安中哲也, 池田房雄, 白羽英則, 高木章乃夫, 岩崎良章, 小橋春彦, 山本和秀: 劇症肝炎患者の血清中における血管増殖因子レベルと予後. 第14回日本肝臓学会大会, 横浜, 2010
- 4) 三宅康広, 山本和秀: 重症型及び劇症型自己免疫性肝炎に対する治療戦略. 第14回日本肝臓学会大会, 横浜, 2010
- 5) 三宅康広, 安中哲也, 池田房雄, 中村進一郎, 白羽英則, 小林功幸, 高木章乃夫, 岩崎良章, 能祖一裕, 小橋春彦, 山本和秀: CTLA4遺伝子の+49A/G多型は自己免疫性肝炎および原発性胆汁性肝硬変の疾患感受性に関連する. 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 6) 三宅康広, 高木章乃夫, 安中哲也, 池田房雄, 岩崎良章, 小橋春彦, 山本和秀: 劇症肝炎に対する治療戦略 劇症肝炎における新たな予後予測モデル. 第46回日本腹部救急医学会総会, 富山, 2010
- 7) 三宅康広, 高木章乃夫, 岩崎良章, 小橋春彦, 安中哲也, 池田房雄, 山本和秀: 劇症肝炎における各種予後予測モデルの評価. 第107回日本内科学会総会・講演会, 東京, 2010

## 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

## Ⅲ-2. 原発性胆汁性肝硬変分科会

### 【ワーキンググループ (WG) 研究報告】

1. 疫学 WG  
関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子
2. 診断基準 WG  
金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二
3. 治療 WG PBC-AIH オーバーラップ症候群：副腎皮質ステロイド投与のための診断指針  
帝京大学医学部 内科 滝川 一
4. 診療ガイドラインの作成 WG  
国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 石橋 大海
5. 抗 gp210抗体の有用性の検証 WG  
国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 中村 稔

### 【分担研究報告】

1. 原発性胆汁性肝硬変全国調査（第31報）－全国調査にみる30年間の予後の変遷－  
関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子
2. 肝移植後原発性胆汁性肝硬変再発の機序解明  
九州大学大学院 消化器・総合外科学 前原 喜彦
3. 肝移植後の中長期成績の解析および生体試料の収集に関する研究  
京都大学 肝胆膵・移植外科 上本 伸二
4. PBC 生体肝移植後再移植症例における組織検討  
朝日大学附属村上記念病院 外科 江川 裕人
5. 原発性胆汁性肝硬変の長期予後予測のためのバイオマーカーの同定  
国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 石橋 大海
6. 日本人 PBC 患者における疾患感受性遺伝子の検討  
帝京大学医学部 内科 滝川 一
7. PBC の病態形成に関わる自然免疫異常の研究  
帝京大学医学部附属病院溝口病院 第四内科 宮川 浩
8. PBC の胆管破壊の免疫学的機序
  - ①胆管細胞における estrogen-related receptor 発現と病態形成への関与
  - ②原発性胆汁性肝硬変の胆管病変におけるオートファジー異常金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二

# 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

原発性胆汁性肝硬変分科会

分担研究報告書

疫学 WG

研究協力者 廣原 淳子 関西医科大学内科学第三講座 准教授

**研究要旨：**本研究の目的は、原発性胆汁性肝硬変（PBC）全国調査のデータベース（DB）を班に所属する研究機関内で共同利用し、効率的な活用を図ることで、本邦におけるPBCの病因・病態の解明および診断および治療指針の策定などの本研究班の課題達成に寄与することである。今回は2009年8月に実施した第14回PBC全国調査の集計結果をDB化したものを利用した。DBの対象総登録症例は7,376例である。

共同研究者

仲野 俊成 関西医科大学  
大学情報センター医療情報部  
關 壽人 関西医科大学 内科学第三講座  
岡崎 和一 関西医科大学 内科学第三講座

## A. 研究目的

本邦における原発性胆汁性肝硬変（primary biliary cirrhosis, PBC）の全国調査は1980年より継続的に実施されてきたが、集積データは全てデータベース（DB）化し保存されている。本研究の目的は、この長期間に亘るPBC全国調査のDBを共同利用し、効率的な活用を図ることで、本邦におけるPBCの病因・病態の解明および診断および治療指針の策定などの本研究班の課題達成に積極的に寄与することにある。

## B. 方法

### 1. 研究方法

PBCの全国調査は1980年より2-3年毎に実施されてきたが、調査実施機関の移行に伴い第1回から第5回までの調査で得られた集積情報を1991年にDBに移行した。第6回目調査以降は全国調査実施機関で継続して一元管理されている。第14回PBC全国調査は、2009年8月に実施したが、全国516の既登録施設に対して2008年12月末までの既登録症例の予後調査と2007年1月から2008年12月末までに新たに診断された新規症例についてアンケート調査により報告を求めたものである。1980年に実施された第1回全国調査から第14回調査までの登録症例は7376例におよびこれら全登録症例の集積データをDB化した。

### 2. 個人情報の管理

「疫学研究に関する倫理指針」（文部科学省・厚生労働省告示第2号、平成14年6月17日付、平成19年8月16日改正）告示以降の本研究にあたっては同告示を遵守し、「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取扱いのためのガイドライン」（厚生労働省、平成16年12月24日付け）に則り、研究グループ外に個人情報管理者を設置することを含めた厳格な個人情報管理システムを構築し、研究対象とした登録症例の個人情報漏洩等について十分な配慮を行っている。

### 3. DBの共同利用指針

同班平成21年度第1回総会において研究班内のDB利用についての申し合わせ事項が確認された。なお、提供するDBは既存資料から抽出された診療情報を収集・集計したものであるが資料は匿名化されており、その運用は「疫学研究に関する倫理指針」（文部科学省・厚生労働省告示第2号、平成14年6月17日付、平成19年8月16日改正）第4の3の規定に則ったものである。

指針に基づき本研究班PBC分科会ワーキンググループ（WG）に所属する、治療WG（代表：帝京大学医学部内科 滝川一）および診断ガイドラインWG（代表：国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター 石橋大海）にDBを提供した。

また2010年5月に財団法人難病医学研究財団「難病情報センター」ホームページのPBC疫学資料を更新し、2010年10月に発刊された当班編集の「原発性胆汁性肝硬変（PBC）の診療ガイド」の疫学資料を提供した。

## C. 研究結果

結果は難病情報センターホームページおよび既刊物「原発性胆汁性肝硬変（PBC）の診療ガイド」として公開されている。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Koyabu M, Uchida K, Miyoshi H et al. Analysis of regulatory T cell and IgG4-positive plasma cells among patients of IgG4-related sclerosing cholangitis and autoimmune liver diseases. J Gastroenterol. 2010, 45, 732-741.
- 2) 廣原淳子：PBCの疫学。原発性胆汁性肝硬変（PBC）の診療ガイド、厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班編、pp8-13. 文光堂、2010
- 3) 三浦亮, 田中篤, 深水雅子他：原発性胆汁性肝硬変が疑われる症例における抗ミトコンドリア抗体測定～IFとM2のどちらを用いるべきか～肝

臓2010, 51, 531-533

2. 学会発表

- 1) 廣原淳子, 仲野俊成, 中沼安二: 本邦における原発性胆汁性肝硬変の疫学的動向-全国調査結果から-シンポジウム5自己免疫性肝胆道疾患最近のトピックス, 第52回日本消化器病学会大会横浜, 2010
- 2) 廣原淳子, 仲野俊成, 中沼安二: 本邦における原発性胆汁性肝硬変の発癌の背景因子-全国調査結果から-, ワークショップ4慢性肝疾患からの発癌: 背景肝疾患(病理・画像・遺伝子異常を含む)からみた検討, 第14回日本肝臓学会大会, 横浜, 2010

H. 知的所有権の取得状況

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）

原発性胆汁性肝硬変分科会  
分担研究報告書  
診断基準 WG

研究分担者 中沼 安二 金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理 教授

**研究要旨：**原発性胆汁性肝硬変（PBC）、原発性硬化性胆管炎（PSC）、IgG4 関連硬化性胆管炎の診断基準の改訂または策定を目的として、ワーキンググループ研究を行った。本年度は、現在提唱している新しいPBC病理学的病期と古典的分類との比較を行い、患者予後と新病期分類との良い相関を得た。また、41例のPBC-AIH オーバーラップ症候群を全国から収集解析し、ステロイド治療指針案が作成された。さらに、PSC、IgG4 硬化性胆管炎を含めた硬化性胆管炎の診断基準案を作成した。

## 共同研究者

滝川 一 帝京大学内科  
恩地 森一 愛媛大学先端病態制御内科  
向坂彰太郎 福岡大学消化器内科  
西原 利治 高知大学消化器科  
銭谷 幹男 東京慈恵会医科大学消化器・肝臓内科  
田妻 進 広島大学病院総合内科・総合診療科  
露口 利夫 千葉大学腫瘍内科  
坪内 博仁 鹿児島大学消化器疾患・生活習慣病学  
石橋 大海 国立病院機構長崎医療センター  
オブザーバー  
原田 憲一 金沢大学形態機能病理

## A. 研究目的

本ワーキンググループでは、原発性胆汁性肝硬変（PBC）の組織学的病期分類およびPBC、原発性硬化性胆管炎（PSC）、IgG4関連硬化性胆管炎の診断基準の見直しおよび改訂を行うことを主眼として立ち上げたワーキンググループであり、下記の如く年度毎に目標を掲げ、本年度までにはほぼすべての目標を完結した。

- 1年目：新しい病理学的病期、活動度分類の提唱
- 2年目：新しい病期分類、活動度分類の応用  
オーバーラップ型あるいは肝炎型PBCの診断基準の策定
- 3年目：PBC、PSC、IgG4関連硬化性胆管炎の診断基準の見直し

PBCの組織学的病期分類として、Scheuerらの分類およびLudwigらの分類が1960年代から汎用されていたが、PBCの病態解明および診断基準の改訂と共に時代のニーズにあった組織学的病期分類が必要とされている。昨年度までの本ワーキンググループでは、PBCの新しい病理学的病期、活動度分類の提唱を行い、さらにInterobserver agreement studyにて軽度から中等度の一致率を確認した。また、新しい病期分類、活動度分類を臨床病理面に応用し、その有用性について検証した。本年度は、新しい病期分類と古典的病期分類との比較を行い、新病期分類の妥当性について検討した。

## B. 研究方法

対象は、銭谷幹男先生（本研究班研究協力者、東京慈恵会医科大学 消化器・肝臓内科 教授）からいただいた988例の臨床病理学的データを用いた（Zeniya M. et al. Diagnosing clinical subsets of autoimmune liver diseases based on a multivariable model. *J Gastroenterol.* 2005）。なお、肝臓専門病理医2～3名（うち1名は研究分担者 中沼安二）による23項目の詳細な組織所見および病理診断が含まれている。

自己免疫性肝炎（AIH）、PBC、PBC-AIH オーバーラップ、PSCなど自己免疫性肝疾患として収集された症例のうち、臨床診断および病理診断が完全に一致したPBC症例166例をプロトタイプとして、各症例の胆管消失および肝線維化の程度をもとに病期（中沼分類、Stage1-4）（表1）に評価した。また、古典的病期分類としてScheuer分類を用い、中沼分類との比較を行った。

また、前回の調査から約10年後に相当する本年度に、追跡予後調査を行った（アンケート調査施行：銭谷幹男先生）。

表1 PBCの新病期分類

病期 (Stage)	スコアの合計 (Sum of score)	
	胆管消失+線維化	胆管消失+線維化+銅顆粒沈着
Stage 1 (no progression)	0	0
Stage 2 (mild progression)	1 2	1 3
Stage 3 (moderate progression)	3 4	4 6
Stage 4 (advanced progression)	5 6	7 9

## C. 研究結果

プロトタイプPBC166症例を対象に、新しい病期分類を応用した結果、Stage2 (mild progression) が45%を占め、その他はほぼ均一に分布していた（図1）。現在汎用されているScheuerらの分類と比較した結果、Scheuer分類Stage1に分類される症例のうち「肝線維化の程度0」「胆管消失の程度1」の症例が新分類のStage2に移行した。また、古典的分類



Stage 4に分類される症例のうち「非硬変肝で、胆管消失が高度な症例」が新分類の Stage 4に移行した。

前回調査から約10年目に相当する本年度に、予後に関する追跡調査を行った結果、PBC166例中76例（消息不明は除く）の予後結果を得た。76例中68例は生存中で、残り8例が死亡または肝移植が施行されていた。内訳を新病期分類と古典的分類とで比較すると、古典的分類では8例中3例が Stage 1であったが、新分類では Stage 1 (no progression) の症例は含まれていなかった（表2）。さらに、生存曲線による検討にて、新病期分類では各病期の分離が良好で、予後と良く相関していた（図2, the log-rank test,  $p=0.02$ ）。しかし、古典的分類では stage 1と stage 2の生存曲線が逆転してしまい、予後との相関も乏しかった（図3, the log-rank test,  $p=5.87$ ）。

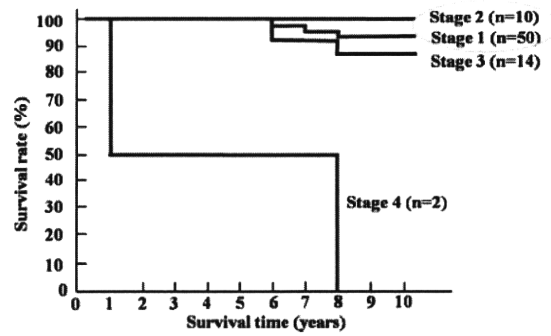


図3 生存曲線 (Scheuer's classification)

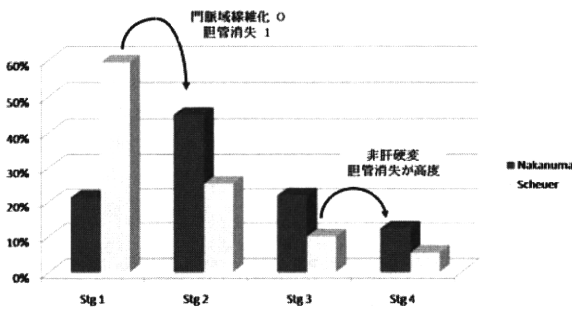


図1 病期 (Staging) 分布

表2 死亡または肝移植例

性	年齢	CA score	HA score	組織学的病期		経過
				中沼分類	Scheuer分類	
男	73	2	0	Stg2	Stg1	7年後(83歳)死亡 HCC
女	36	3	0	Stg2	Stg1	8年後(42歳)肝移植
女	46	2	1	Stg2	Stg1	6年後(52歳)肝移植
女	56	1	1	Stg3	Stg2	10年後(66歳)肝移植
女	34	2	1	Stg3	Stg3	6年後(40歳)肝移植
女	63	2	3	Stg3	Stg3	8年後(71歳)肝不全死
女	50	1	1	Stg4	Stg4	1年後(51歳)肝不全死
男	39	3	2	Stg4	Stg4	7年後(46歳)肝移植

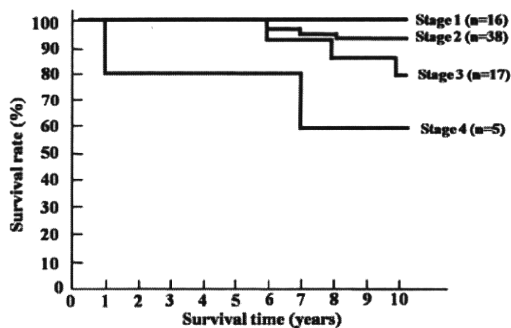


図2 生存曲線 (Nakanuma's classification)

#### D. 考 察

近年、我々はPBCの病理学的活動度分類および新しい病期分類について提唱し、PBCやオーバーラップの診断、治療選択や薬物治療効果判定など時代のニーズにあった分類と考えている。本年度、我々の新分類とScheuer分類との比較を行った結果、両者間で分布の違いが見られた。大きな要因としてScheuer分類で Stage 1であった「線維化なし、胆管消失軽度」の症例が新分類で Stage 2に分類され、また「非硬変肝で胆管消失が高度」の症例が新分類で Stage 4に分類された。新分類の Stage 1は「no progression」として定義した病期であり、極めて病初期または進行しない症例と解釈される群である。事実、10年後の今回の予後調査でも新病期分類の Stage 1からは死亡例や移植例は1例も見られず、Stage 1のカテゴリーとしては妥当な群と確認できた。また、新病期分類の Stage 4は、前硬変肝の状態でも高度の胆管消失を伴う症例が含まれており、単に肝硬変期と定義する古典的分類とは大きく異なる。近年、肝移植例の症例蓄積により、古典的病期 stage 3相当で肝移植適応となる症例を経験する機会にしばしば遭遇する。このような症例は極めて高度の胆汁うっ滞を来した非代償性肝不全の状態であり、新病期分類では stage 4に分類される症例と推測される。また、今回の予後調査結果に基づく生存曲線解析においても、古典的分類に比べ新病期分類で良好な相関が得られ、新病期分類の予後推測に関する有用性、さらに病期分類としての妥当性が確認できた。

#### E. 結 論

現在提唱している新しいPBC病理学的病期分類を用いて、プロトタイプPBC 166例を分類した結果、新分類による病期判定は患者予後を良く反映しており、病期分類としての妥当性を確認した。

#### F. その他のプロジェクト

・オーバーラップ型あるいは肝炎型PBCの診断基準の策定：グループリーダー 滝川一（帝京大学内科）。協力施設から集積されたPBC-AIHオーバーラップ症候群41例の臨床病理データを解析し、オーバーラップ



症候群のステロイド治療指針案として、「PBC-AIH オーバーラップ症候群と考えられる症例のうち、以下の2項目を同時に満たす症例に対しては、ウルソデオキシコール酸に加えてステロイドの投与を推奨する。1) 厚労省の診断基準(2010)によりPBCと診断される症例。2) IAIHGのsimplified criteria(2008)によりprobable/definite AIHと診断される症例。ただし、病理に関しては、中沼らによるPBCの活動度分類の肝炎スコア(HA)を用い、肝炎スコア0-1(HA 0-1)を0 point, 肝炎スコア2(HA2)を1 point, 肝炎スコア3(HA3)を2 pointとして計算する。PSC, IgG4硬化性胆管炎を含めた硬化性胆管炎の診断基準案を作成した。

・硬化性胆管炎の診断基準の策定：グループリーダー 田妻進(広島大学病院総合内科・総合診療科)。大西班・大槻班合同WG報告案に基づいて硬化性胆管炎の診断基準案を策定し、更に岡崎班との合同検討を踏まえて修正案を作成した。最後に本学会議の研究協力者とともに最終調整を行いPSC, IgG4硬化性胆管炎を含めた硬化性胆管炎の診断基準案を作成した。

## G. 健康危険情報

特になし

## H. 研究発表

### 1. 論文発表

- ・Hiramatsu K, Nakanuma Y, et al. Proposal of a new staging and grading system of the liver for primary biliary cirrhosis. *Histopathology*. 2006;49(5):466-78.
- ・中沼安二他. 原発性胆汁性肝硬変(PBC)の新しい組織学的病期分類および活動度分類－肝針生検への応用－*肝胆膵* 2008; 57: 1261-1270
- ・Yasuni Nakanuma, et al. Application of a new histologic staging and grading system for primary biliary cirrhosis to liver biopsy specimens -Interobserver agreement- *Pathol Int*. 2010;60(3):167-74.

### 2. 著書

- ・Yasuni Nakanuma. *Pathology of the liver* (in press)
- ・Yasuni Nakanuma. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology (formerly Gastroenterol Clin Biol)* (Editor in chief: R. Poupon) (in press)

### 3. 学会発表

- ・原田憲一, 中沼安二. 自己免疫性肝炎および原発性胆汁性肝硬変の病理診断における最近の知見. 第14回日本肝臓学会大会
- ・Kenichi Harada, Hsu Maylee, Yasuni Nakanuma. Application and validation of a new histologic staging and grading system for primary biliary cirrhosis. *AASLD*, 2010.

## I. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

# 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

原発性胆汁性肝硬変分科会  
分担研究報告書

治療WG

PBC-AIH オーバーラップ症候群：副腎皮質ステロイド投与のための診断指針

研究分担者 滝川 一 帝京大学医学部内科 教授

**研究要旨：** AIH と PBC が同時に発症する症例（オーバーラップ症候群；OLS）に対しては副腎皮質ステロイド治療の有効性が報告されているが、その投与基準は定まっていない。今回われわれは全国8施設から33例の OLS 症例を収集し、その診断時臨床状況・病理所見、治療経過および予後を検討することにより、ステロイド投与のための診断指針を策定することを目的とした。診断時病理組織の検討では interface hepatitis が最も目立つ所見であり、HA（hepatitis activity）スコアよりも CA（cholangitis activity）スコアの方が有意に高く、AIH 的要素の方が PBC 的要素よりも強いという特徴がみられた。しばしば OLS の診断に用いられている Paris criteria と simplified AIH スコアとを比較すると、Paris criteria では33例中30例が AIH と診断されたものの、ステロイド治療を必要とした症例を抽出する上での感度・特異度はそれぞれ91%・11%であった。一方 simplified AIH score では、33例中 AIH と診断されたのは24例にとどまったものの、感度・特異度は91%・67%となり、Paris criteria と比較して感度は同等、特異度は優れているという結果であった。以上より simplified AIH スコアによりステロイド治療が必要な症例をより高い特異度で抽出できる可能性が示された。

共同研究者

田中 篤 帝京大学医学部内科

## A. 研究目的

自己免疫性肝炎（Autoimmune hepatitis; AIH）と原発性胆汁性肝硬変（Primary biliary cirrhosis; PBC）とはいずれも肝を標的臓器とする自己免疫性肝疾患である。AIH と PBC の病像が同時に、あるいは異時性に共存する病態はオーバーラップ症候群（overlap syndrome; OLS）と呼ばれ、ウルソデオキシコール酸（ursodeoxycholic acid; UDCA）に加えて副腎皮質ステロイド（以下ステロイド）などの免疫抑制剤が奏功するという報告が多い。しかし、OLS の疾患概念や診断基準が未だに確定していないこともあり、どのような症例にステロイドを投与すべきかについての基準は未だに確定していない。

本研究では、各施設から集積された OLS 症例の発症時の臨床像、及び病理所見を retrospective に解析し、加えて診断後の治療内容・経過を検討することにより、OLS 症例に対するステロイド治療についての指針を策定することを目的とした。

## B. 研究方法

本研究班に参加している班員に依頼し、それぞれの施設において OLS と診断されている症例を拾い上げていただき、各症例の診断時の状況・病理組織・治療内容及びその経過などにつき詳細な臨床情報をアンケートによって回収した。ご協力いただいたのは福島県立医科大学（大平弘正先生・横川順子先生）、信州大学（吉澤要先生）、慶應大学（海老沼浩利先生）、帝京大学溝口病院（菊池健太郎先生）、岡山大学（山本和秀先生・三宅康広先生）、愛媛大学（恩地森一先生・

阿部雅則先生）、長崎医療センター（石橋大海先生・小森敦正先生）である。借用した診断時病理組織標本は金沢大学病理（中沼安二先生・原田憲一先生）に依頼して一括診断した。なお、本研究は帝京大学医学部倫理委員会において「ステロイド治療が奏功する原発性胆汁性肝硬変症例についての観察研究」として審査・承認されている（平成21年4月22日付、帝医倫08-125号）。

## C. 研究結果

全国8施設から40例の OLS 症例が集積され、うち33例では診断時病理組織標本の検討が可能であった。40例全体の診断時の臨床状況については平成21年度報告書を参照されたい。本年度報告書では主に33例の病理組織学的検討を加えた結果、および治療内容・予後について記載する。

病理組織所見も加えて revised AIH スコアを計算すると、33例中6例が not AIH、19例が probable AIH、8例が definite AIH と診断され、したがって6例が OLS とは診断されないという結果であった。しかし revised AIH スコアでは AMA 陽性が-4点と記載されており、この減点はもともと PBC を合併し AMA 陽性であると想定される OLS 症例にはなじまないため、AMA 陽性の減点を除いたところ、11例が probable、22例が definite AIH となり、全例が OLS の診断を満たした（表1）。

診断時の病理組織を PBC 的要素（bile duct injury, bile duct loss, atypical ductular reaction）および AIH 的要素（interface hepatitis, rosette formation, plasma cell infiltration）にわけ、それぞれ0（所見なし）から4（強い所見あり）としてスコアリングした。その結果、最もスコアが高く強い所見がみられたのは

interface hepatitis ( $2.0 \pm 0.8$ , mean  $\pm$  SD) であり、次いで plasma cell infiltration ( $1.5 \pm 0.9$ ), bile duct injury ( $1.4 \pm 1.0$ ) であり、PBC 的要素にくらべて AIH 的要素が強いことが示唆された (表 2)。また、中沼らによる PBC の新組織診断基準 (Nakanuma, 2010) で提唱されている necroinflammatory activities を、CA スコア (cholangitis activity) および HA スコア (hepatitis activity) に分けて検討すると、CA スコアは  $1.27 \pm 0.98$ 、HA スコアは  $2.27 \pm 0.67$  であり、胆管炎の程度を示す CA スコアの方が HA スコアに比し有意に高かった ( $P < 0.001$ ) (図 1, 図 2)。

治療経過では、当初 UDCA/ステロイドはそれぞれ 26 例、16 例に対し投与されていた。平均  $6.1 \pm 5.2$  年の経過観察期間中、ステロイドはさらに 7 例追加投与され、UDCA は 4 例に追加された。結果として経過観察期間終了時には治療内容のはっきりしている 32 例中 23 例 (72%) でステロイドが投与されていた (表 3)。32 例中 30 例では経過は良好で肝酵素は正常化し無症状で経過していたが、2 例では症状 (それぞれ肝性脳症・黄疸) が出現していたものの、肝疾患関連死はなく、卵巣癌で 1 例が死亡していた。

OLS の診断にしばしば用いられている Paris criteria (Chazouilleres, 1998) および simplified AIH スコア (Hennes, 2008) を用い、診断時にどちらがステロイド治療を必要とした症例を抽出できるかについて検討した。ただし simplified AIH スコアの病理所見として、HA スコアを用いた。その結果、Paris criteria では 33 例中 30 例が AIH と診断されたものの、ステロイド治療が不要であった 9 例中 8 例が AIH と診断され、ステロイド治療を必要とした症例を抽出する上での感度・特異度はそれぞれ 91%・11% となり、Paris criteria によって AIH と診断されてもステロイド治療を必ずしも必要としないという結果となった。一方 simplified AIH score では、33 例中 AIH と診断されたのは 24 例にとどまったものの、ステロイド治療不要の 9 例中 6 例が AIH とは診断されないという結果で、感度・特異度は 91%・67% となり、Paris criteria と比較して感度は同等、特異度は優れているという結果であった (表 4)。

#### D. 考 察

OLS は比較的まれな疾患であり、その診断基準も確定していない。本研究では AIM の診断に際して revised AIH スコアを用いたが、AMA 陽性の減点項目を除外するという修正を行った。これはもちろん恣意的であるという批判は免れないものの、ステロイド治療の必要な OLS 症例を抽出するという実際的な目的のためには、このように OLS と推定される症例をはっきりとした criteria なしに大まかに抽出し、その中で検討するという方法を取らざるを得ないものと思われる。

過去の OLS についての検討でも interface hepatitis の頻度は比較的高いと報告されているが、CA・HA スコアの検討も含めて OLS の病理組織では AIH 的

要素が強いというのは今回初めての知見である。これはおそらく、PBC の診断には感度・特異度ともにきわめて高い AMA というマーカーが存在するのに対し、AIH ではそのようなマーカーが存在しないため、診断における病理組織の比重がより高くなるということと説明されるだろう。

今回検討対象とした症例はいずれも良好な予後をたどっており、このことからこれらにおける治療内容はいずれも妥当であったという作業仮説を立て、診断時においてどのようにステロイド治療が必要となる症例を抽出できるかという観点から Paris criteria と simplified AIH スコアの比較を行った。その結果、オリジナルの報告から病理組織所見を多少変更した、いわば “modified” simplified AIH スコアが、Paris criteria よりも高い特異度をもってステロイド治療必要症例を抽出できることが明らかとなった。もともと simplified AIH scoring system は、AIH 症例を早期に診断しステロイド治療を迅速に開始する目的のために策定されたものである。したがって、AIH のみならず OLS においてもこの simplified AIH スコアがステロイド治療を必要とする症例の抽出に有用であるというのは理解しやすい結果であると思われる。

#### E. 結 論

全国から 33 例の OLS 症例を収集し、臨床的・病理学的検討を行った。病理組織では interface hepatitis など AIH 的要素が強いことが OLS の一つの特徴と考えられた。また、診断時には病理組織所見を HA スコアに変更した “modified” simplified AIH スコアによって、比較的高い特異度でステロイド治療が必要となる症例を抽出できる可能性が示された。今後この結果を前向きに検証し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

Tanaka, A, et al. Primary biliary cirrhosis - autoimmune hepatitis overlap syndrome: a rationale for corticosteroids use based on a nationwide retrospective study in Japan. (manuscript in preparation)

##### 2. 学会発表

「本邦におけるオーバーラップ症候群の実態」田中篤他, シンポジウム「自己免疫性肝胆道疾患: 最近のトピックス」第 14 回日本肝臓学会大会 (2010.10.13, 横浜)

「PBC-AIH オーバーラップ症候群の診断指針～ステロイド治療が必要な症例を抽出するために～」田中篤他, パネルディスカッション「自己免疫性肝胆膵疾患～病態解明から治療へ～」第 97 回日本消化器病学会総会 (2011.5.14, 東京, 発表予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表1 revised AIH スコアリングシステムによる AIH の診断

	AMA +ve : -4	AMA +ve : ±0
Not AIH	6	0
Probable AIH	19	11
Definite AIH	8	22

表2 診断時病理所見

AIH features		PBC features	
findings	mean±SD	findings	mean±SD
interface hepatitis	2.0±0.8	bile duct injury	1.4±1.0
rosette formation	0.3±0.7	bile duct loss	0.9±0.9
plasma cell infiltration	1.5±0.9	atypical ductular reaction	0.9±0.9

表3 治療内容

	initial treatment	at the end of follow-up
UDCA monotherapy	15	8
UDCA+bezafibrate	1	1
corticosteroids monotherapy	6	2
UDCA+ corticosteroids	8	16
UDCA+ corticosteroids +azathioprine	1	1
UDCA+ corticosteroids +bezafibrate	1	4
unknown	1	1
including UDCA	26	30
including corticosteroids	16	23

図1

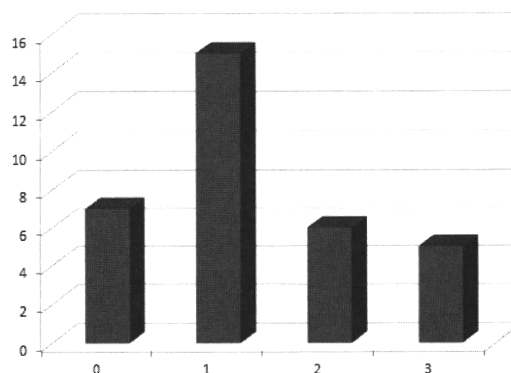


図1 診断時組織における CA (cholangitis activity) スコア

図2

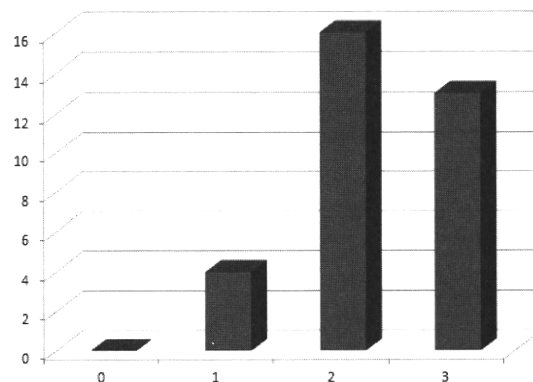


図2 診断時組織における HA (hepatitis activity) スコア

表4 Paris criteria と simplified AIH スコアの比較

		Paris		simplified	
		AIH	not AIH	AIH	not AIH
All overlap pts	33 <sup>*1</sup>	30	3	24	8
corticosteroids (+) pts	23 <sup>*2</sup>	21	2	20	2
corticosteroids (-) pts	9	8	1	3	6