

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：自己免疫性肝炎には時に非典型例が存在し、その一つに急性発症型自己免疫性肝炎があげられる。急性発症型自己免疫性肝炎では、抗核抗体陰性例や血清 IgG 低値といった例が存在し、亜急性の経過や肝萎縮・地図状パターンといった画像所見を呈することが特徴的で、診断困難例も多く、その結果重症化やステロイド治療抵抗性を招くのであろう。今回、この急性発症型自己免疫性肝炎をウイルス性急性肝炎とその臨床像を比較検討したところ AST/ALT 値が低いにも関わらず、血清中の好炎症サイトカイン・ケモカイン値が高値であった。これらの結果から、急性発症型自己免疫性肝炎は亜急性の経過や画像所見から早期に診断し、より強力な免疫抑制療法を行うことが治療成績の向上に繋がると考えられた。

共同研究者

海老沼浩利	中本 伸宏
緒 柏松	山岸 由幸
碓井 真吾	梅田瑠美子
石橋 由佳	若山 遊子
菊池 真大	金井 隆典
斎藤 英胤	

A. 研究目的

我々は、今までに自己免疫性肝炎（autoimmune hepatitis; AIH）の病態を解明すべく、臨床面から AIH 患者の治療経過について、及び基礎研究面から AIH モデルマウスを用いた研究について、以下の3年間の長期的な研究計画を立て研究を続行してきた。

- (1) 慶應義塾大学関連病院における AIH の診断と治療成績
- (2) AIH 患者の免疫動態の解析
- (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

本年は、急性発症型 AIH に注目して、その早期診断と治療成績の向上を目指して、問題点を提起し、解決策を探ってみた。急性発症型 AIH は、抗核抗体陰性例や血清免疫グロブリン（IgG）低値例と非典型例が多い。また、凝固能の低下から肝組織学的検索が出来ないことが多く、診断が困難であることが多い。さらに、これらの診断の遅れが重症化を招くことになり、ステロイド等の治療に抵抗性となることも報告されている (1,2)。そこで、この急性発症型 AIH の早期診断が治療成績の向上につながると考え、その診断方法を模索すべく、急性ウイルス性肝炎症例とその病態を比較検討した。

さらに、自己免疫応答性急性肝障害と考えられている Con A 肝炎の病態形成における CCR9陽性マクロファージの役割についても引き続き研究を続けている。

B. 研究方法

(a) 急性発症型 AIH 患者の臨床経過及びサイトカイン濃度の解析

2000年から2011年に経験した急性発症型 AIH（慢性型の急性増悪を除く）23例を急性ウイルス性肝炎80例とその患者背景・臨床経過につき比較検討した。また、診断時の血清が利用可能であった症例につき、Bio-Plex™ サスペンションアレイシステムによりサイトカインを測定、急性発症型 AIH と急性ウイルス性肝炎で比較検討した。

(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（昨年度からの継続）

C. 研究結果

(a) 急性発症型 AIH 患者の臨床経過及びサイトカイン濃度の解析

①急性発症型 AIH とウイルス性急性肝炎（以下ウイルス性）の臨床像の相違

急性発症型 AIH では、ウイルス性症例と比較し、抗核抗体陽性率は高かったが、IgG 値には有意な差を認めなかった。また、急性発症型 AIH では自覚症状出現から入院までの期間が長かった。入院時の AST/ALT 値、AST/ALT 最高値はウイルス性と比較して低値で、反対に入院時の TB 値、TB 最高値は高値であった。また、画像所見が得られたケースでは、急性発症型 AIH では肝萎縮・地図状パターンがみられるケースが多く、診断上有用と考えられた。

②急性発症型 AIH とウイルス性の血清サイトカイン値の相違

急性発症型 AIH ではウイルス性と比較して、AST/ALT 値が低値にもかかわらず、MIP-1 α 、IL-17、basic FGF、TNF- α 値が有意に高値であった。（以上、現在論文投稿準備中である）

(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+ plasmacytoid DC は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一方で、CCR9+ macrophage は Con A 投与後に CCL25の発現

上昇に伴い肝内に遊走し、免疫応答を惹起する特徴を有していた。CCR9 knockout mouse では、Con A 投与後の肝障害の軽減が観察された。(詳細は論文発表1)を参照)

D. 考 察

急性発症型 AIH はその診断が早期に困難であるが故に重症化ないしはステロイド治療に抵抗性になると考えられる。実際、PT-INR 値1.5以上の急性肝不全もしくは劇症肝炎に移行すると、肝移植が必要になる等予後不良の転帰をとるケースが多い。そのため、急性発症型 AIH の治療成績を向上させるには、如何に早期に診断するかが重要であると考えられる。重症型の急性発症型 AIH では、凝固能の低下から肝組織学的検索が施行できないことが多い。しかし、今回急性発症型 AIH とウイルス性の臨床像の比較では、亜急性という経過や肝萎縮・地図状パターンといった画像所見が急性発症型 AIH に特徴的であることが分かった。さらに、興味深いことには受診時の AST/ALT 値がウイルス性と比較して低値であるにも関わらず、TB 値は高値であった。すなわち、診断までに時間が経過し、重症化している可能性が示唆された。

一方、血清サイトカイン・ケモカインの解析では、急性発症型 AIH ではウイルス性と比較して、MIP-1 α , IL-17, basic FGF, TNF- α 値が有意に高値であった。AST/ALT 値が低値であるにもかかわらず、これらのサイトカイン・ケモカインが高値であったことから、ウイルス性急性肝炎よりもより炎症が遷延する可能性ならびにその治療としてより強力な免疫抑制療法が必要になるのではないかと考えられた。

そこで、我々は急性発症型 AIH が疑われた重症肝炎 (PT-INR 値1.5以上もしくは TB 値20以上) 症例に対して、経過と画像所見から診断し、ステロイドパルス療法やステロイド抵抗例ではサイクロスポリン持続静注療法等の強力免疫抑制療法を施行し、18/24 (75%) で寛解に導いており、今後も早期の診断・治療を進めていきたいと考えている。

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については、その詳細を論文発表1)に譲りたいが、免疫寛容が破綻を来した時には CCR9陽性マクロファージで代表される炎症惹起性細胞が中心となり、好炎症サイトカイン・ケモカインの産生を交えて、非可逆性の炎症が持続する可能性があり、早期に免疫抑制療法を施行する必要があるのではないかと考えている。今後、CCR9をターゲットとした治療は急性発症型 AIH の新規の治療法となりうると考えられた。

E. 結 論

急性発症型 AIH では、抗核抗体陰性例や血清 IgG 低値といった非典型例が多いが、亜急性の経過や画像所見を駆使する必要がある。さらに急性発症型 AIH では、ウイルス性と比較して AST/ALT 値が低いにも関わらず、血清中の好炎症サイトカイン・ケモカ

イン値が高値で、より強力な免疫抑制療法が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nakamoto N, Ebinuma H, Kanai T, Chu PS, Ono Y, Mikami Y, Ojiro K, Lipp M, Love PE, Saito H, Hibi T. CCR9+ Macrophages are Required for Acute Liver Inflammation in Mouse Models of Hepatitis. Gastroenterology 2011 Nov 9. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1) Nakamoto N, Ebinuma H, Kanai T, Chu PS, Ono Y, Mikami Y, Ojiro K, Saito H, Hibi T. Newly identified TNF- α -producing CCR9+ macrophages induce acute liver inflammation in mice. 62nd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases November 2009, San Francisco (Hepatology 2011; 54 (4) Suppl: 125A)

2) 肝移植可能な単一施設での新ガイドラインによる急性肝不全患者の内科的治療戦略. 山岸由幸, 海老沼浩利, 日比紀文. 「急性肝不全の治療戦略と移植医療」第97回日本消化器病学会総会. 2011年5月 (日本消化器病学会雑誌2011; 108増刊: A126)

3) 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. 中本伸宏, 海老沼浩利, 日比紀文「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年5月 (日本消化器病学会雑誌2011; 108増刊: A79)

4) 当院における急性肝不全患者の集学的治療の変遷と現状. 山岸由幸, 海老沼浩利, 碓井真吾, 梅田瑠美子, 楮柏松, 中本伸宏, 齋藤英胤, 日比紀文, 篠田昌弘, 板野理, 河地茂行, 田辺稔, 北川雄光. 第37回日本急性肝不全研究会 2011年6月, 東京

5) 自己免疫性肝炎 (AIH) における末梢血濾胞性ヘルパー T 細胞の動態: 急性発症型 AIH を中心に. 楮柏松, 海老沼浩利, 中本伸宏, 碓井真吾, 梅田瑠美子, 山岸由幸, 金井隆典, 齋藤英胤, 日比紀文. 第47回日本肝臓学会総会 2011年6月, 東京 (肝臓 2011; 52 Suppl: A252)

6) 急性肝障害に対する CCR9/CCL25を介した新規免疫療法. 中本伸宏, 海老沼浩利, 齋藤英胤, 金井隆典, 日比紀文. シンポジウム2「消化器疾患の免疫療法」第48回日本消化器免疫学会総会. 2011年7月, 金沢

7) 重症急性発症型自己免疫性肝炎に対する免疫抑制療法の功罪. 海老沼浩利, 山岸由幸, 中本伸宏,

若山遊子, 石橋由佳, 碓井真吾, 楮柏松, 梅田瑠美子, 金井隆典, 齋藤英胤, 日比紀文. 第15回日本肝臓学会大会 (JDDW 2011) 2011年10月, 福岡 (肝臓 2011; 52 Suppl2: A674)

- 8) 急性発症型自己免疫性肝炎の病態とその治療－急性ウイルス性肝炎との比較. 海老沼浩利, 齋藤英胤, 日比紀文. パネルディスカッション2「自己免疫性肝疾患の病態と治療」第39回日本肝臓学会西部会2011年12月, 岡山 (肝臓 2011; 52 Suppl3: A725)

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) Stravitz RT, Lefkowitz JH, Fontana RJ, et al. Autoimmune acute liver failure: proposed clinical and histological criteria. *Hepatology* 2011; 53: 517-526
- 2) Fujiwara K, Yasui S, Tawada A, et al. Autoimmune fulminant liver failure in adults: experience in a Japanese center. *Hepatol Res* 2011; 41: 133-141

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

自己免疫性肝炎の長期予後－国立病院機構肝疾患ネットワークの成績－

研究分担者 石橋 大海 国立病院機構 長崎医療センター 臨床研究センター長

研究要旨：自己免疫性肝炎の予後を明らかにする目的で、国立病院機構（NHO）肝疾患ネットワーク参加施設で新規に診断された症例を対象に多施設共同前向きコホート研究を行った。1995～2008年までに193名の登録があり、10年生存率は94.2%、15年生存率は89.3%であった。全経過中に7名（3.6%）の肝細胞癌（HCC）の発生を認め、HCC合併のリスクファクターは発症時の肝硬変の合併であった。

研究協力者

右田 清志 長崎医療センター臨床研究センター

A. 研究目的

自己免疫疾患（AIH）の予後は、良好とされているが、厳密なコホート研究は少ない。本邦 AIH 症例の長期予後、肝硬変（LC）、肝細胞癌（HCC）への進展症例の実態を明らかにする目的で、多施設共同前向きコホート研究を行った。

B. 研究方法

対象：国立病院機構（NHO）肝疾患ネットワーク参加施設で、1995年～2008年、新規に診断された AIH 症例を対象とした。国際基準で、definite 以上で PBC との overlap 症例は除外した。1995年～2008年の間に NHO 肝疾患ネットワークに新規に登録された AIH 症例は212名で、転院等で、経過が追跡できなかった19名を除外した。193名について解析を行った。

C. 研究結果

【ベースラインデータ】対象となった AIH193名の平均観察は、 8.0 ± 4.5 年であった。登録時のベースラインデータを表1に示す。平均年齢は、 56.6 ± 13.9 才、男女比＝16：177でその他の自己免疫疾患の合併例は51名（26.4%）であった。診断時、すでに21例（10.9%）が肝硬変（LC）の状態であった。診断時の肝機能検査は、血清アルブミン： 3.76 ± 0.61 、AST： 392.0 ± 450.7 、ALT： 408.6 ± 421.2 、総ビリルビン： 3.95 ± 5.66 、血小板数： $192,500 \pm 80,200$ であった。免疫学的検査では、ANA の陽性率が84%（158/188）抗平滑筋抗体の陽性率が40.9%（36/88）であった。初期治療は、ステロイド単独100名（51.8%）、ステロイド+UDCA 42名（21.8%）、UDCA 単独43名（22.3%）であった。ステロイド投与症例の平均ステロイド投与量は、プレドニゾロン換算で 28.7 ± 73.0 mg/day であった。

転帰を図1に示す。診断時 LC を合併していた21名中4名に肝関連死を認めた。経過中 LC に進展した15名中1名に肝関連死（肝不全）を認め、LC に進展しなかった。157名において、1名が劇症肝炎で死亡したが、それ以外に肝関連死は認めなかった。図2に生存曲線を示すが、10年生存率は94.2%、15年生存率は89.3%であった。

HCC への進展：経過中7名（3.6%）が HCC に進展した。HCC 進展のリスクファクターについてコックス比例ハザードモデルを用いて解析した。単変量解析（表2）では、性（男性）、発症時の LC の存在が抽出されたが、多変量解析（表3）、発症時の LC が HCC 合併の独立したリスクファクターであることがわかった。発症時の LC の合併の有無で2群には有意の差が認められ、特に10年以降、LC 合併症例で、HCC-free survival が、著しく低下することがわかった。

D. 考察・結論

今回の AIH 予後に関する多施設共同前向きコホート研究の結果より、本邦 AIH 患者の生命予後は、従来の報告通り、比較的良好であることがわかった。一方で、LC、HCC 進展例が必ずしも稀でなく、このような症例では肝関連死が高率にみられることが判明した。また HCC の進展リスクとして肝硬変の存在が明らかとなり、このような症例においては、定期的なサーベイが必要と考えられた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Migita K, Watanabe Y, Jiuchi Y, Nakamura Y, Saito A, Yagura M, Ohta H, Shimada M, Mita E, Hijioka T, Yamashita H, Takezaki E, Muro T, Sakai H, Nakamura M, Abiru S, Komori A, Ito M, Yatsushashi H, Nakamura M, Ishibashi H; Japanese NHO-Liver-network study group. Hepatocellular carcinoma and survival in patients with autoimmune hepatitis (Japanese National Hospital Organization-autoimmune hepatitis prospective study). *Liver Int.* 2011 Dec 30. [Epub ahead of print].

2. 学会発表

なし

G. 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

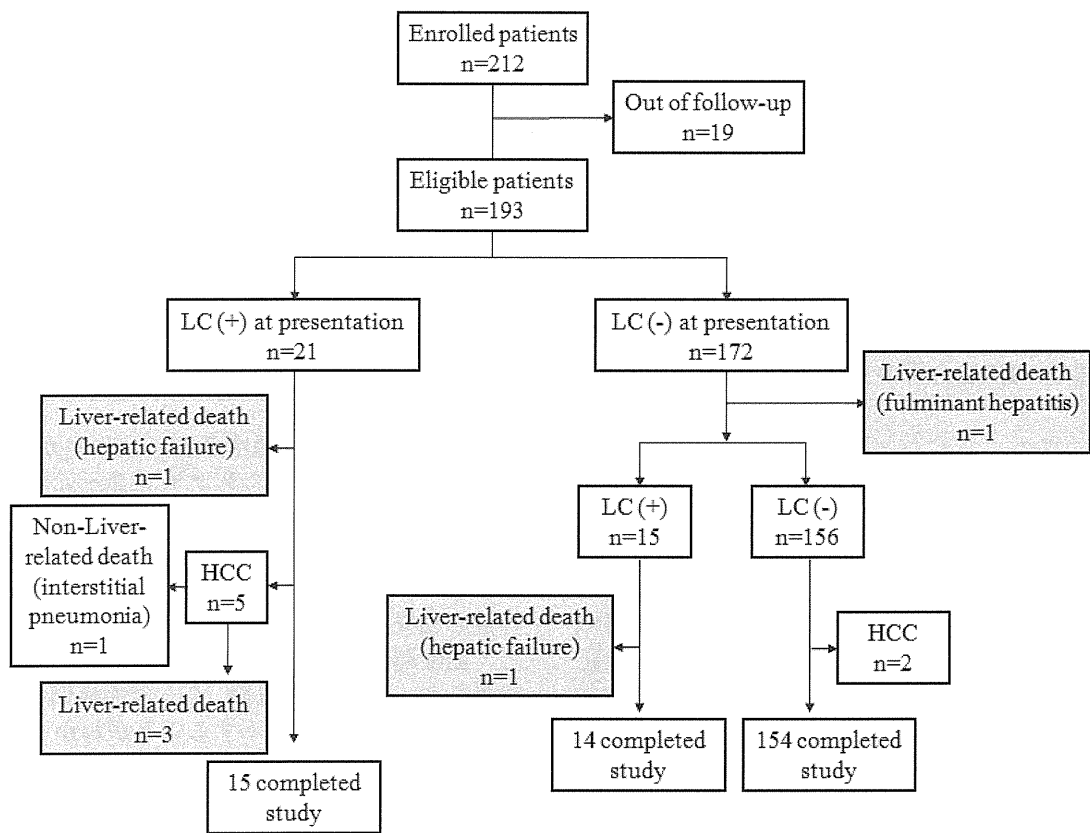


図1 AIH 症例の臨床経過

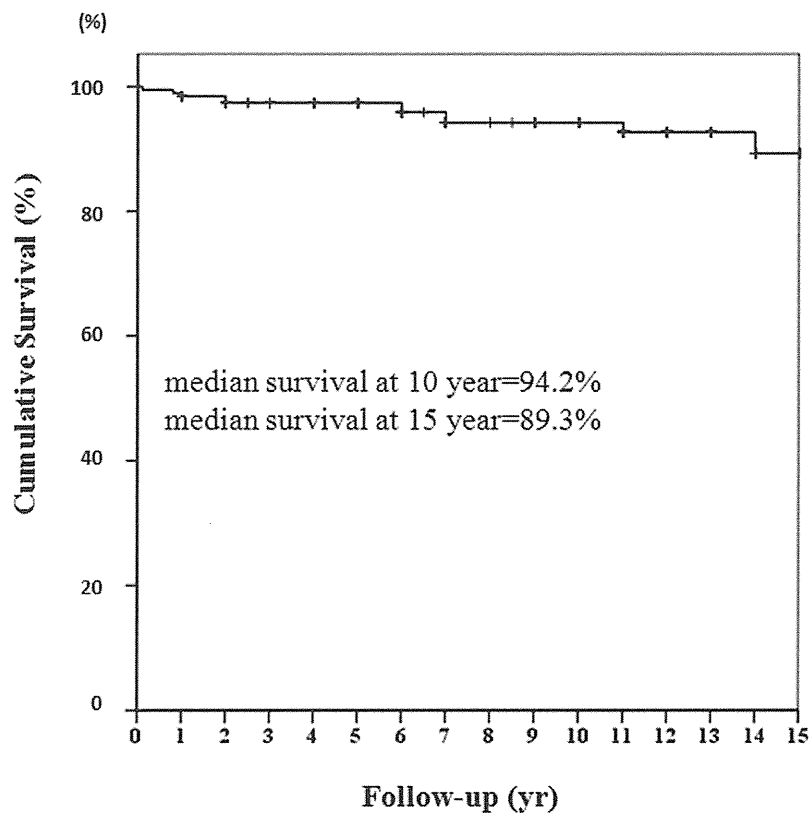


図2 AIH 症例の生存曲線

表1 登録時のベースラインデータ

n=193		
Gender (male/female)	16/177	
Mean age at presentaion (years)	56.6 ± 13.9	(16-84)
Mean age		
Age ≥ 60yr	98(50.8%)	
Age < 60yr	95(49.2%)	
Other autoimmune diseases	51(26.4%)	
Mean follow-up (years)	8.0 ± 4.5	(0.1-21)
Baseline Laboratory Values		
AST (<40 IU/L)	392.00 ± 450.65	(29-2718)
ALT (<40 IU/L)	408.55 ± 421.21	(18-2020)
ALP (<112 IU/L)	453.18 ± 270.04	(112-2135)
Bilirubin (mg/dl)	3.95 ± 5.66	(0.27-31.8)
Albumin (3.5-5.0 g/L)	3.76 ± 0.61	(2.00-5.10)
IgG (500-1300mg/dl)	2517.49 ± 913.43	(210.2-5221)
Platelets (15-40×10 ⁴ μl)	19.25 ± 8.02×10 ⁴	(2.00-57.00×10 ⁴)
ANA + (≥1:40)	158/188(84.0%)	
SMA + (≥1:40)	36/88(40.9%)	
Cirrhosis at presentation	21(10.9%)	
Received treatment		
Mean PSL (mg/day)	28.71 ± 72.98	(0-1000)
PSL ≥ 20mg	126(65.3%)	
PSL alone	100(51.8%)	
PSL + UDCA	42(21.8%)	
PSL + Aza	2(1.0%)	
UDCA alone	43(22.3%)	
Relapse	47(24.4%)	

Abbreviation: AST; aspartate aminotransferase, ALT; alanine aminotransferase, ALP; alkaline phosphate, ANA; anti-nuclear antibody, SMA; anti-smooth muscle antibody, PSL; prednisolone, UDCA; ursodeoxy cholic acid, Aza; azathioprine

表2 HCC 合併のリスクファクター (コックス比例ハザードモデル, 単変量)

Characteristics	Subgroup	HCC		HR (95%CI)	p value
		Yes (n=7)	No (n=186)		
Gender	male	2 (28.6%)	14 (7.5%)	6.058 (1.151-31.869)	0.033
Age	<50	1 (14.3%)	51 (27.4%)	0.325 (0.039-2.707)	0.299
	50-59	1 (14.3%)	42 (22.6%)	0.496 (0.060-4.124)	0.517
	≥60	5 (71.4%)	93 (50.0%)	3.617 (0.699-18.723)	0.125
Other autoimmune disease	(+)	3 (42.9%)	48 (25.8%)	1.730 (0.386-7.750)	0.474
Cirrhosis at presentation	(+)	5 (71.4%)	16 (8.6%)	13.878 (2.670-72.142)	0.002
PSL	(-)	1 (14.3%)	55 (29.6%)	0.330 (0.040-2.748)	0.306
	1-19 mg/day	1 (14.3%)	13 (7.0%)	1.164 (0.138-9.827)	0.889
	20-39 mg/day	4 (57.1%)	60 (32.3%)	3.352 (0.750-14.994)	0.113
	≥40 mg/day	1 (14.3%)	57 (30.6%)	0.484 (0.058-4.053)	0.503
Relapse	(+)	4 (57.1%)	43 (23.1%)	3.789 (0.848-16.936)	0.081

Abbreviations: HCC; hepatocellular carcinoma, HR; Hazard Ratio, PSL; prednisolone

表3 HCC 合併のリスクファクター (コックス比例ハザードモデル, 多変量)

Variables	p	HR (95%CI)
Male gender	0.275	2.572 (0.472-14.008)
Cirrhosis at presentaion	0.005	11.741 (2.134-64.602)

Abbreviations: HCC; hepatocellular carcinoma, HR; Hazard Ratio, CI; confidence interval

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

自己免疫性肝炎進行例の解析

研究協力者 鈴木 義之 虎の門病院分院臨床検査部 部長

研究要旨：本邦の自己免疫性肝炎（AIH）は免疫抑制剤治療への反応性が良く、長期予後は良好との報告が多い。しかしながら近年では高齢化とともに、肝硬変へ移行する例さらには発癌する症例も散見されている。このような症例の中にはいわゆる難治例とされる症例が含まれており、昨年度我々は難治例とされる症例を対象により有効な診断法や治療法がないかについて検討し報告してきた。本年度は当院でこれまでに肝硬変へと進展した21例と肝細胞癌（HCC）を併発した7例の症例を経験し、各々の症例の病態と治療の反応性を解析し、いかに有効な治療を行うかを検討したので報告する。

A. 研究目的

昨年度、我々は難治例を解析しより良い診断法、治療法は如何なるものかについて報告してきた。免疫抑制療法を行うことの目的は AIH 患者の肝臓の炎症を消退させ、組織学的進展（主に線維化の進行）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、血液学的所見から病期が進行した症例に焦点を当て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年より2011年12月までに当院で type- I の AIH と診断された症例は153例存在する。今回の検討では、ウイルスマーカー陽性例、初診時肝硬変、3年未満の経過観察例は除外し112例とした。組織学的検索、血小板10万以下、食道静脈瘤の出現をもって肝硬変へ移行したと判断した。治療反応性については AST 値を50以下にコントロールし、再燃のない群を反応良好例とし、それ以外を不良例とした。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、2point 以上の改善を改善例とし、0-1point 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。また、可能な限り HLA のタイピングを行い特に DR 抗原別の検討を行った。

発癌症例の検討では、初診時肝硬変症例、発癌症例が含まれるため125例の検討となっている。HCC の診断は、腹部超音波、CT、MRI の画像診断を行い、CT もしくは MRI 検査において早期で濃染し、平衡

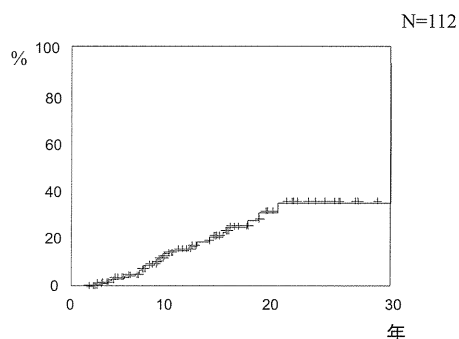
相で低吸収域を呈した結節を HCC と診断した。治療については、各症例の全身状態を考慮した上で、可能な限り根治療法を目指した方法を選択した。

C. 研究結果

全症例（153例）の背景は年齢の中央値は53歳（範囲19-78：以下はすべて中央値とカッコ内は範囲）、女性129例（84%）、AST 94.5（15-1936）、ALT 114（9-1542）、ALP 329（56-1576）、 γ -GTP 133（12-1344）、IgG 2177（280-5251）、 γ -glob. 2.17（0.5-5.2）、ANA 640（40-10240）、AIHscore 16（6-19）であった。

肝硬変への移行を検討した結果では、112例中21例が移行したと判断され、移行率は図1に示すように20年で約38%であった。病期進行例の初診時の特徴は IgG や γ glob. が高値であり、また ANA も高値であり、 γ GTP においても有意差が認められたが、AIHscore や肝胆道系酵素には差が認められなかった。全例での肝硬変移行率は18.8%であり、背景因子と治療反応性から多変量解析を行った結果では治療反応性のみが有意であり（ $P=0.004$ ）、IgG 値と BMI に傾向差が認められた。

図1.自己免疫性肝炎からの肝硬変移行率



HCC が認められた症例は125例中7例であり、背景因子は表1に示すとおりである。図2に全症例の経過と予後を示してあるが、当然のことながら非発癌症例に比べ発癌例では死亡率が高くなっている。発癌症例7例のリスクについて検討を行っているのが、表2で

表1.自己免疫性肝炎に伴う発癌症例の背景

	発癌症例	非発癌症例
症例数	7	118
年齢(歳)	62 (59 - 79)	53 (22-72)
性別 男:女	5:2	19:99
AST (IU/L)	97.5 (29 - 1356)	82 (16 - 1270)
ALT (IU/L)	192 (32 - 2412)	95 (11 - 2640)
IgG	2918 (1734 - 5021)	2745 (1854 - 4632)
ANA	1280 (320 - 5120)	1280 (0 - 10240)
AIHscore	12 (11 - 17)	14 (12 - 19)
PSL治療の頻度	3(43%)	94(80%)

図2.自己免疫性肝炎の予後

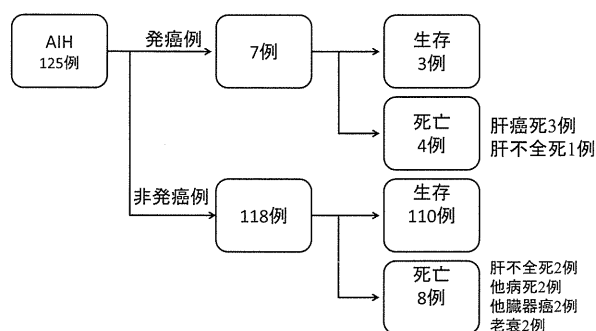


表2.自己免疫性肝炎に伴う発癌症例における発癌リスクの検討

No.	性別	発癌年齢	Followの有無	発癌リスク		再発リスク			最終観察時	
				治療と反応性	他のリスク	再発の有無	リスク	癌の治療	生/死	生存期間
1	M	59	有	PSL不良	脂肪肝	無		ope	生	81M
5	F	62	有	PSL不良	アルコール	有	アルコール、多発	TACE	死	28M
3	M	79	有	UDCA良好	高齢	無		RFA	生	4M
4	M	79	有	UDCA不良	糖尿病	有	治療反応不良	RFA→TACE	死	84M
7	M	62	有	UDCA不良		有	治療反応不良	TACE	死	19M
6	M	58	無	UDCA不良	アルコール	有	多発	TACE	死	22M
2	F	69	無	PSL不良		有	巨大	TACE	生	60M

ある。発癌リスクとしてはウイルス性肝炎でも言われているように脂質代謝異常や糖尿病、アルコールといった要因が挙げられ、再発のリスクとしては癌側の因子として多発であったり、また AIH 側の要因として治療反応性の不良が挙げられる。生存期間は従来の報告に比べ比較的長く、病勢のコントロールがこれに関与していると考えられた。

D. 考察

免疫抑制療法による肝炎の安定化は肝硬変移行率を引き下げ、発癌症例においても予後の改善をもたらす可能性がある。発癌後の生存期間は44カ月（平均値49カ月）と従来の報告よりも良好であった。表3に示すように肝酵素を低値で安定させている群からの発癌率

表3.治療反応性からみた予後

AIH 125	AST	生		死	
		UDCA	PSL	UDCA	PSL
非発癌 118	50≥	14	81	1	2
	50<	7	8	2	3
発癌 7	50≥	1	2	0	0
	50<	0	0	3	1

は低くまた、再発を抑制することで生存率の向上に寄与しているものと考えられた。さらに AIH 以外の因子や肝炎の安定化が不良な症例からの発癌が多く発癌リスクと考えられ、生活指導を含めた脂質代謝異常や糖尿病のコントロールも重要であると考えられた。

E. 結論

自己免疫性肝炎からの病期進行例はコントロール良好な症例からはまれであり、免疫抑制療法による肝炎の安定化が発癌抑制も含めた進行抑制もなしえる可能性があると考えられた。発癌後も再発に対する治療を繰り返し、肝炎を安定化させることで長期の生存期間が可能であると思われた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- 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
- 学会発表
 - 1) 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
 - 2) 第47回日本肝臓研究会ワークショップ1-④ 4.自己免疫性肝炎に伴う肝発癌症例の検討 2011.7.28 静岡
 - 3) JDDW2011 第15回日本肝臓学会大会ワークショップ3-10 自己免疫性肝炎病期進行例の病態と予後 2011.10.20 福岡

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 消化器内科学 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、組織学的、血清学的に AIH に類似する de novo AIH の発症を認めることがあるが、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 発症時の血清中には抗 HLA 抗体が原発性胆汁性肝硬変や健康人よりも有意に高率に検出されること、更に HLA DNA typing と Luminex 法（Single Antigen）による解析により、抗 HLA class II 抗体陽性例中には自己 HLA class II allele に対する抗体陽性例が存在することが確認された。また、AIH 肝組織においては interface hepatitis 周囲の肝細胞を中心に HLA class II 分子の発現を認めることから、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可能性があると考えられた。

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）の発症や病態の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である。

一方、原疾患が AIH 以外で肝移植に至った症例に AIH 類似の病態が生じることがあり、組織学的、血清学的に AIH に類似するため de novo AIH と呼称されるものの、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。また、骨髄移植後の移植片対宿主病（graft-versus-host disease, GVHD）でも肝に AIH 類似の病態を生じることが報告されている。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 に対する免疫応答に関する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2011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静岡病院にて診断および治療され、かつインフォームドコンセント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、いずれも女性の AIH 35例、原発性胆汁性肝硬変（primary biliary cirrhosis; PBC）30例、肝疾患および自己免疫性疾患の無い Control 30例を対象とし、保存血清（-20℃）を用いて Luminex 法（LABScreen Mixed）により抗 HLA class I および class II 抗体を測定した。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、

末梢血を用いて HLA DNA typing を施行した。また、肝組織を用いて HLA class II 発現を免疫組織染色により検討した。

C. 研究結果

(1) 症例の背景

平均年齢は AIH 58.3 ± 15.2 歳、PBC 55.8 ± 12.6 歳、Control 57.5 ± 19.2 歳であった。

(2) 血液生化学検査

AIH の ALT 値（Mean \pm SD）は 369.7 ± 406.0 IU/l（range, 39-1852）、総ビリルビン値は 6.7 ± 7.9 mg/dl（0.8-27.3）、プロトロンビン時間（PT）INR は 1.33 ± 0.51 （0.90-2.72）、IgG 値は 2719.7 ± 1322.2 mg/dl（794-1852）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 97.1%、抗 HLA class II 抗体が 81.8% で陽性であり、特に抗 HLA class II 抗体は PBC 33.3%、Control 13.3% の陽性率と比較して有意に高率であった（図 1）。

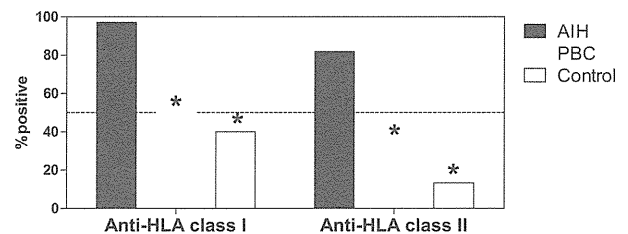


図 1. 抗 HLA 抗体陽性率 (* $p < 0.01$, AIH と比較)

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 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。更に、AIH 肝組織の免疫組織染色では interface hepatitis 周囲の肝細胞において HLA class II 発現が陽性と考えられる結果が得られた。

D. 考 察

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- γ 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、かつ AIH 肝組織の interface hepatitis 周囲の肝細胞に HLA class II 分子発現を認めたことは、HLA 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、HLA class II 分子を発現する抗原提示細胞に対する影響なども検討し、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。AIH の病態解明には、抗 HLA 抗体を介した肝細胞傷害の存在や抗原提示細胞への影響の評価など更なる検討が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fujimaki S, Matsuda Y, Wakai T, Sanpei A, Kubota M, Takamura M, Yamagiwa S, Yano M, Ohkoshi S, Aoyagi Y. Blockade of ataxia telangiectasia mutated sensitizes hepatoma cell lines to sorafenib by interfering with Akt signaling. *Cancer Lett.* 2012 (in press)
- 2) Nozawa Y, Nishikura K, Ajioka Y, Aoyagi Y. Relationship between alpha-methylacyl-coenzyme A racemase expression and mucin phenotype in gastric cancer. *Hum. Pathol.* 2012 (in press)

- 3) Kamimura H, Yamagiwa S, Tsuchiya A, Takamura M, Matsuda Y, Ohkoshi S, Inoue M, Wakai T, Shirai Y, Nomoto M, Aoyagi Y. Reduced NKG2D ligand expression in hepatocellular carcinoma correlates with early recurrence. *J. Hepatol.* 2012; 56(2): 381-8.
- 4) Iwasaki T, Kawai H, Oseki K, Togashi T, Shioji K, Yamamoto S, Sato Y, Suzuki K, Toba K, Nomoto M, Hatakeyama K, Aoyagi Y. Japanese case of Budd-Chiari syndrome due to hepatic vein thrombosis successfully treated with liver transplantation. *Hepatol. Res.* 2012; 42(2): 213-8.
- 5) Kobayashi M, Takeuchi M, Hashimoto S, Mizuno KI, Sato Y, Narisawa R, Aoyagi Y. Contributing Factors to Gastric Ulcer Healing After Endoscopic Submucosal Dissection Including the Promoting Effect of Rebamipide. *Dig. Dis. Sci.* 2012; 57(1): 119-26.
- 6) Hashimoto S, Kobayashi M, Takeuchi M, Sato Y, Narisawa R, Aoyagi Y. The efficacy of endoscopic triamcinolone injection for the prevention of esophageal stricture after endoscopic submucosal dissection. *Gastrointest. Endosc.* 2011; 74(6): 1389-93.
- 7) Tsuchiya A, Kamimura H, Tamura Y, Takamura M, Yamagiwa S, Suda T, Nomoto M, Aoyagi Y. Hepatocellular carcinoma with progenitor cell features distinguishable by the hepatic stem/progenitor cell marker NCAM. *Cancer Lett.* 2011; 309(1): 95-103.
- 8) Kobayashi M, Takeuchi M, Ajioka Y, Hashimoto S, Sato A, Narisawa R, Aoyagi Y. Mucin phenotype and narrow-band imaging with magnifying endoscopy for differentiated-type mucosal gastric cancer. *J. Gastroenterol.* 2011; 46(9): 1064-70.
- 9) Ohkoshi S, Yamagiwa S, Yano M, Takahashi H, Aoki YH, Waguri N, Igarashi K, Sugitani S, Takahashi T, Ishikawa T, Kamimura T, Wakabayashi H, Watanabe T, Matsuda Y, Aoyagi Y. Failure to achieve 2-log₁₀ viral decrease in first four weeks of peg-IFN α -2b plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C with genotype 1b and high viral titer is useful in predicting non-response: evaluation of response-guided therapy. *Hepatogastroenterology.* 2011; 58(107-108): 965-70.
- 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.* 2011; 56(6): 1811-7.
- 11) Takeuchi M, Kobayashi M, Hashimoto S, Narisawa R, Aoyagi Y. Usefulness of magnifying narrow band imaging for assessing lateral tumor

extent of early gastric cancer: a case report. Dig. Endosc. 201; 23 Suppl 1: 86-8.

- 12) Aoyagi Y, Tamura Y, Suda T, EDITORIAL, History and recent progress in evaluation of the fucosylated alpha-fetoprotein fraction. J. Gastroenterol. Hepatol. 2011; 26(4): 615-6.
- 13) Abe S, Nagasaka K, Hirayama Y, Kozuka-Hata H, Oyama M, Aoyagi Y, Obuse C, Hirota T. The initial phase of chromosome condensation requires Cdk1-mediated phosphorylation of the CAP-D3 subunit of condensin II. Genes Dev. 2011; 25(8): 863-74.
- 14) Aoki YH, Ohkoshi S, Yamagiwa S, Yano M, Takahashi H, Waguri N, Igarashi K, Sugitani S, Takahashi T, Ishikawa T, Kamimura T, Wakabayashi H, Watanabe T, Matsuda Y, Nomoto M, Aoyagi Y. Characterization of elevated alanine aminotransferase levels during pegylated-interferon α -2b plus ribavirin treatment for chronic hepatitis C. Hepatol. Res. 2011; 41(2): 118-25.
- 15) 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.

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マーカーとしての新規自己抗体

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I型（type 1 AIH）患者の血清中に抗PD-1抗体の存在を認めた。抗PD-1抗体の陽性率は、type 1 AIH患者で63%、薬物性肝障害患者で8%、健常者で3%であった。臨床検査値との関連では、抗PD-1抗体価はtype 1 AIH患者において血清中総ビリルビン値やトランスアミナーゼ値と相関していた。また、抗PD-1抗体陽性例では陰性に比べて抗核抗体陽性率が有意に高率であった。以上より、血清中抗PD-1抗体はtype 1 AIHと薬物性肝障害の鑑別診断に有用であるのみならず、type 1 AIHの病態に関与している可能性が推測される。

A. 研究目的

自己免疫性肝炎I型（type 1 AIH）の診断に特異的なマーカーが存在しないため、日常臨床においてtype 1 AIHと薬物性肝障害（DILI）との鑑別診断に苦慮する症例をしばしば経験する。また、動物モデルでは、活性化リンパ球表面に発現する補助刺激分子programmed cell death-1（PD-1）の機能不全がAIHの病態に関連している可能性が報告されている。

本研究の目的は、type 1 AIH患者の末梢血中にPD-1に対する自己抗体が存在するか、また存在するのであれば薬物性肝障害との鑑別診断に有用であるかについて明らかにすることである。

B. 研究方法

対象は、type 1 AIH患者52例、DILI患者24例、健常者62例。Recombinant PD-1（Abnova）を使用し、indirect ELISAにて血清中抗PD-1抗体価を測定した。なお、血清中抗PD-1抗体価の測定は、type 1 AIH患者とDILI患者では治療開始前の血清を使用した。また、type 1 AIH患者29例ではステロイド治療により血清中トランスアミナーゼが正常化した後の抗PD-1抗体価についても測定した。抗PD-1抗体価のcut-off値は健常者における血清中抗PD-1抗体価のmean + 2SDとし、cut-off値以上の抗体価を示す症例を抗PD-1抗体陽性とした。

C. 研究結果

治療開始前の血清中抗PD-1抗体の陽性率は、type 1 AIH患者63%、DILI患者8%、健常者3%であり、type 1 AIH患者において陽性率が有意に高頻度であった。

臨床検査値との関連では、type 1 AIH患者において抗PD-1抗体価が血清中総ビリルビン値（ $r = 0.31$ ）やAST値（ $r = 0.29$ ）、ALT値（ $r = 0.31$ ）と相関していたが、これらの相関関係はDILI患者では認められなかった。また、抗核抗体陽性type 1 AIH患者では陰性患者に比べて血清中抗PD-1抗体陽性率が有意に高頻度であった（70% vs 33%）。一方、抗平滑筋抗体と血清中抗PD-1抗体陽性率の間には関連が認められなかった。

ステロイド治療により血清中トランスアミナーゼが正常化した症例では、治療開始前に比べて血清中抗PD-1抗体価が有意に低下した（ $P < 0.0001$ ）。

D. 考察

本研究により、ヒトの血清中に抗PD-1抗体の存在が示された。特に、血清中抗PD-1抗体陽性率はtype 1 AIH患者で高頻度であり、DILI患者における陽性率との間に明らかな差を認めた。Type 1 AIHの一部は薬剤により誘発されるものの、type 1 AIHとDILIの間には治療法や予後など大きな相違がある。よって、type 1 AIHとDILIの鑑別に有用なマーカーの開発は肝疾患診療において重要な課題である。この課題を克服するうえで血清中抗PD-1抗体は有用なマーカーに成り得ると思われる。

これまでtype 1 AIHの病態に関連する自己抗体はほとんど報告されていなかったが、抗PD-1抗体価はtype 1 AIHの病勢と相関することが本研究により示された。PD-1は活性化したリンパ球表面に発現し、抗原提示細胞表面に発現するPD-L1と反応することでリンパ球の活性を抑制したり活性化したリンパ球をアポトーシスに導いたりすることで炎症を抑制する役割を担っている。動物モデルに抗PD-1抗体を投与すると、メモリーB細胞やCD4+T細胞、CD8+T細胞の活性が増強することやCD4+CD25+Foxp3+T細胞の活性が低下することが報告されている。これらの状態は、AIH患者の末梢血中でみられる現象に一致している。また、ヒトに抗PD-1抗体を投与すると一部の症例で自己免疫現象が認められることも報告されている。以上より、抗PD-1抗体はtype 1 AIHの病態に関与している可能性が推測される。

Type 1 AIHの診断に汎用されている抗核抗体や抗平滑筋抗体は、ステロイド治療による影響をほとんど受けないことからtype 1 AIHの治療経過のマーカーとしては有用でない。一方、本研究では、ステロイド治療後に血清中抗PD-1抗体価が低下することが示された。よって、血清中抗PD-1抗体はステロイド治療による反応性を評価するうえでも有用なマーカーと考えられる。

E. 結 論

Type 1 AIH 患者の血清中に存在する抗 PD-1 抗体は、AIH と DILI の鑑別診断に有用であると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyake Y, Yasunaka T, Ikeda F, Takaki A, Nouse K, Yamamoto K. Fulminant hepatitis: Who survives without liver transplantation? *Hepato Res.* 2012;42:60-7
- 2) Tanaka A, Harada K, Ebinuma H, Komori A, Yokokawa J, Yoshizawa K, Abe M, Miyake Y, Kikuchi K, Ohira H, Zeniya M, Yamamoto K, Ishibashi H, Onji M, Nakanuma Y, Tsubouchi H, Takikawa H. Primary biliary cirrhosis - Autoimmune hepatitis overlap syndrome: A rationale for corticosteroids use based on a nation-wide retrospective study in Japan. *Hepato Res* 2011;41:877-886
- 3) 山本和秀, 三宅康広, 【肝と免疫】原発性胆汁性肝硬変 診断, *臨床消化器内科*, 2011;26:1501-1507
- 4) 三宅康広, 山本和秀, PSC とその類縁疾患, オーバーラップス 基礎 自己抗体からみた PSC および類縁疾患 (IgG4 関連硬化性胆管炎を含む) の病態, *肝・胆・膵*, 2011;62:751-755

2. 学会発表

- 1) 三宅康広, 山本和秀, 恩地森一, 急性肝炎様発症を呈する自己免疫性肝炎例における予後因子の検討, 第39回日本肝臓学会西部会, 岡山, 2011
- 2) 大西敦之, 三宅康広, 松本和幸, 高木章乃夫, 山本和秀, 急性肝不全症例における血清中可溶性接着分子の意義, 第39回日本臨床免疫学会総会, 東京, 2011
- 3) 松本和幸, 三宅康広, 榎田祐三, 松田浩明, 高木章乃夫, 貞森裕, 能祖一裕, 八木孝仁, 藤原俊義, 山本和秀, 正常ヒト肝切除に伴う増殖因子の経時的変動 生体肝移植ドナーにおける検討, 第47回日本肝臓学会総会, 東京, 2011
- 4) 三宅康広, 高木章乃夫, 山本和秀, 急性肝不全の治療戦略と移植医療 劇症肝炎における予後予測・肝移植の適応決定に SIRS の評価が重要である, 第97回日本消化器病学会総会, 東京, 2011

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

自己免疫性肝疾患における転写抑制因子に関する研究

研究協力者 中本 安成 福井大学医学部第二内科 教授

研究要旨：転写抑制因子 Id2はNK細胞およびNKT細胞の分化や維持に重要な分子であり、これらの細胞が関与する自然免疫は自己免疫性肝疾患の発症と進展に重要な役割を演じている。本研究では、自己免疫性肝疾患の病態を解析するためId2に着目し遺伝子ノックアウトマウスを用いて検討した。肝臓内にある単核球中のNK細胞数はId2ノックアウトマウスで低下していた。NKT細胞も低下している報告があり、Id2ノックアウトマウスはConcanavalin A誘導肝炎モデルに対して感受性が低いことが予想される。Id2の機能解析は自己免疫性肝疾患の発症機序を解明する上で重要と考えられ、新規治療法の開発につながる可能性が示唆された。

A. 研究目的

肝臓における自然免疫は自己免疫性肝疾患の発症と進展に重要な役割を演じていることが認識されつつある。抗原非特異的なエフェクター機構を介するNKT細胞やNK細胞活性化によって抗原特異的なリンパ球の活性化が引き起こされることより、NKT細胞およびNK細胞は自己免疫性肝疾患の発症や進展に必要と考えられている。分化および増殖に働くinhibitor of DNA binding 2 (Id2)はNKT細胞およびNK細胞の分化や維持に重要な転写抑制因子であることが示されていることより、自己免疫性肝疾患の病態を解析するためId2に着目し遺伝子ノックアウトマウスを用いて検討した。

B. 研究方法

Id2ノックアウトマウスを用いて肝臓におけるNK細胞およびNKT細胞の動態を解析した。さらに、Concanavalin A誘導肝炎モデルを用いて、肝炎発症に対する感受性を血清学的および組織化学的に評価し、分泌されるサイトカインプロファイルを解析した。また、肝臓へ浸潤する単核球について各種表面マーカーを用いてスクリーニングした。

(倫理面での配慮)

動物実験については、動物愛護と動物福祉の観点から各法令に基づき当該研究を実施した。また、実施機関の実験動物委員会の審査と承認を得て行った。

C. 研究結果

- 1) 肝臓におけるNK細胞の動態：Id2ヘテロマウス (Id2+/-) およびId2ノックアウトマウス (Id2-/-) の肝臓内にある単核球中のCD3陰性でIL-2Rβ陽性の細胞数はId2+/-では13.2%であるのに対し、Id2-/-では3.4%と低下していた。
- 2) 肝臓におけるNKT細胞の動態：NK細胞と同様に解析中。
- 3) Concanavalin A誘導肝炎モデルを用いた検討：現在進行中。

D. 考察

自己免疫性肝疾患の発症および進展において、肝臓で

の自然免疫の重要性が明らかとなってきている。NK細胞およびNKT細胞は抗原非特異的なエフェクター機構により抗原特異的なリンパ球の活性化を引き起こすとともに直接的な細胞障害活性を有する。Concanavalin A誘導肝炎モデルにおいて、抗NK1.1抗体によるNKT細胞およびNK細胞の除去で肝炎は抑制され、NKT細胞を欠損するCd1dノックアウトマウスでは肝炎に対して感受性が低い。Id2ノックアウトマウスは野生型マウスに比べ肝臓内のNK細胞が少なく、NKT細胞の減少も報告されておりConcanavalin A誘導肝炎に抵抗性があることが予想される。自己免疫性肝疾患におけるId2によるNKT細胞およびNK細胞制御の解明は新規治療法の開発に役立つものと考えられる。

E. 結論

転写抑制因子Id2は肝臓におけるNKT細胞およびNK細胞の発生や維持に関与しており、自己免疫性肝疾患の発症機序を解明する上で重要な分子と考えられ、新規治療法の開発につなが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

- 1) Nakamoto Y, Mizukoshi E, Kitahara M, Arihara F, Sakai Y, Kakinoki K, Fujita Y, Marukawa Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, Kaneko S: Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization. Clin. Exp. Immunol. 2011; 163: 165-177.
- 2) Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Sakai A, Sakai Y, Kagaya T, Yamashita T, Honda M, Kaneko S: Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific T-cell responses in patients with hepatocellular

carcinoma. Hepatology 2011; 53: 1206-1216.

3) Honda M, Takehana K, Sakai A, Tagata Y, Shirasaki T, Nishitani S, Muramatsu T, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Yamashita T, Nakamura M, Shimakami T, Yi M, Lemon SM, Suzuki T, Wakita T, Kaneko S; Hokuriku Liver Study Group: Malnutrition impairs interferon signaling through mTOR and FoxO pathways in patients with chronic hepatitis C. Gastroenterology 2011; 141: 128-140.

4) Takata Y, Nakamoto Y, Nakada A, Terashima T, Arihara F, Kitahara M, Kakinoki K, Arai K, Yamashita T, Sakai Y, Yamashita T, Mizukoshi E, Kaneko S: Frequency of CD45RO+ subset in CD4+CD25(high) regulatory T cells associated with progression of hepatocellular carcinoma. Cancer Lett. 2011; 307: 165-173.

2. 学会発表

1) Nakamoto Y, Yamashita T, Kaneko S: Differential Dynamics of the NF-kappaB subunits RELA and RELB in a Mouse Model of Chronic Hepatitis B. 第62回 American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) Annual Meeting (San Francisco, California): Hepatology 54 (4, Suppl.) 1300A; 一般; poster: Nov. 8, 2011

2) Kakinoki K, Nakamoto Y, Kagaya T, Sakai Y, Mizukoshi E, Mukaida N, C M1 Macrophage Filtration Contributes to the Enhancement of Antitumor Effect with the Combination of Suicide Gene Therapy and Monocyte Chemoattractant Protein-1 Delivery in Mouse Model of Hepatocellular Carcinoma. 第62回 American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) Annual Meeting (San Francisco, California): Hepatology 54 (4, Suppl.) 981A; 一般; poster: Nov. 7, 2011

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. 原発性胆汁性肝硬変疫学 WG
関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子
2. 病因・病態 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
 - ① UDCA 効果が不十分な PBC への対策 (特にベザトール使用について)
 - ② PSC・硬化性胆管炎についての全国調査
帝京大学医学部 内科 滝川 一
4. PBC 診療ガイドライン 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
原発性胆汁性肝硬変の疾患感受性遺伝子による病態の解明～日本人 PBC-GWAS 共同研究～
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科肝臓病学講座 中村 稔
6. IgG4関連硬化性胆管炎の診断基準 WG
広島大学病院 総合内科・総合診療科 田妻 進

【分担研究報告】

1. 原発性胆汁性肝硬変全国調査 (第32報) - 全国調査にみる肝移植症例の検討 -
関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子
2. 北海道における原発性胆汁性肝硬変の空間疫学的検討
札幌医科大学医学部公衆衛生学 森 満
3. PBC 生体肝移植後長期経過例における死因調査
東京女子医科大学 消化器 外科 江川 裕人
4. 原発性胆汁性肝硬変に対する肝移植に関する臨床研究
京都大学医学研究科外科学講座 肝胆膵・移植外科学分野 上本 伸二
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. PBC における自己抗原特異的 T 細胞の分子機構の検討
帝京大学医学部 内科 滝川 一

7. いわゆる PBC + AIH overlap 症例の臨床的位置づけ－10年以上の観察例から－
帝京大学溝口病院 第四内科 宮川 浩
8. 原発性胆汁性肝硬変の胆管病変におけるミトコンドリア蛋白の発現
金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二
9. PBC での胆管破壊機序の解明
九州大学 病態修復内科学 下田 慎治
10. PBC 患者におけるトランスポーターの変化
福岡大学 消化器内科 向坂彰太郎
11. PBC におけるコリントランスポーター OCT1の重要性
九州医療センター 消化器内科 中牟田 誠
12. PBC における脂質代謝の検討 (5)：脂肪酸代謝の異常
東京医科大学茨城医療センター 松崎 靖司
13. エストロゲン肝障害における肝細胞膜トランスポーターの動態
高知大学医学部 消化器内科 西原 利治
14. 肝移植後原発性肝硬変再発の機序解明
九州大学 消化器・総合外科 前原 喜彦
15. 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) のウイルス感染の基礎検討
山形大学 内科学第二 (消化器内科学) 講座 上野 義之

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

原発性胆汁性肝硬変疫学 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7376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

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。

本年度は指針に基づき本研究班研究分担者である中沼安二原発性胆汁性肝硬変分科会会長に DB を提供した。

C. 研究結果

結果は、第47回日本肝癌研究会においてワークショップ原発性胆汁性肝硬変からの肝細胞癌で公開された。

D. 健康危険情報

無し

E. 研究発表

1. 論文発表

1) 廣原淳子，仲野俊成，關壽人他：全国集計からみた原発性胆汁性肝硬変の疫学的動向。自己免疫性胆管疾患のオーバーラップス。PBC/AIH, PSC/AIH と PSC/IgG4関連硬化性胆管炎を中心に。肝胆膵2011, 62, 679-684

2. 学会発表

1) 廣原淳子，仲野俊成，中沼安二他：本邦における原発性胆汁性肝硬変発癌の背景因子－全国調査における検討から－ワークショップ1 原発性胆汁性肝硬変からの肝細胞癌，第47回日本肝癌研究会，静岡，2011

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移植時期選択方法の評価－全国調査肝移植例における検討から－，ワークショップ3 自己免疫性肝障害・薬物性肝障害の up-to-date，第53回日本消化器病学会大会，福岡，2011

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。

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 無し
2. 実用新案登録 無し
3. その他 無し

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

病因・病態 WG

研究分担者 中沼 安二 金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 教授

研究要旨：原発性胆汁性肝硬変（PBC）患者血清中のフラクタルカイン（FRK）について臨床病理学的に検討した。血清中 FRK 値が高値を示す PBC 症例は、gp210抗体陰性であり、また病初期の症例に多い傾向があった。また、治療前に FRK 値高値の患者のうち、UDCA 治療有効例では血清 FRK 値の低下が見られたが、無効例では FRK 値が上昇する症例が多かった。FRK は PBC の慢性炎症を制御するケモカインであり、PBC の治療効果マーカーおよび治療分子標的の候補分子と考えられた。

共同研究者

中村 稔 国立病院機構長崎医療センター
臨床研究センター
下田 慎治 九州大学病態修復内科学
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）の病態制御因子および治療の新規標的分子としてフラクタルカイン（FRK）の有用性を検証する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（1年目）の目標を完結した。

- 1年目：FRK の動態からみた PBC の病態解析
- 2年目：PBC 治療の分子標的として FRK の検証
- 3年目：臨床応用に向けての基礎的検討

FRK は細胞接着分子と細胞遊走因子の2つの活性を併せもつ細胞膜結合型ケモカインであり、ADAM10, ADAM17によるシェディングにより膜結合型から分泌型となり、FRK 受容体（CX3CR1）を発現する細胞（CD16+NK 細胞, CD8+ 細胞障害性 T 細胞, CD4+T cells, $\gamma\delta$ T 細胞, 単球, 成熟マクロファージ, 粘膜樹状細胞）を誘導する。我々は PBC 患者血清中で FRK 値が高値であること、また PBC の障害胆管に FRK 発現が見られることを報告しており（Isse et al., Hepatology, 2005）、PBC の慢性胆管炎の発生に FRK が関与していると推測している。また、胆管における FRK 発現には門脈域内の血管内皮、浸潤単核球、胆管細胞での TLR3, TLR4 を介した自然免疫応答が関与していることも報告されている（Shimoda et al., Hepatology, 2010）。本ワーキンググループの本年度計画として、FRK の動態からみた PBC の病態を解析するため、PBC 患者血清中 FRK 値と病態および UDCA 治療効果との関連性について臨床病理学的に検討を行った。

B. 研究方法

対象は、国立病院機構長崎医療センターに登録されている PBC 患者68症例で、男性14例（平均53歳）、女性54例（平均59歳）。治療開始前、開始後1年後および2年後の患者血清の一般肝機能データ、自己抗体に加えて、今回 ELISA 法にて FRK の測定を行った。また、UDCA 治療開始前の肝生検の組織学的活動度（CA,HA）、病期分類（線維化、胆管消失、オルセイン染色陽性顆粒の程度）（Nakanuma et al, Pathol Int, 2010）のデータを用いて、血清 FRK 値との関連性を解析した。

C. 研究結果

UDCA 治療前の PBC 患者血清中 FRK 値は平均 3.2ng/ml であったが、症例の大半は0~3ng/ml であり、5ng/ml 以上の高値例が68症例中14例に見られた。FRK 値と肝機能データ（ALT,ALP）および IgM との相関を検討した結果、ALT との相関係数が0.22, ALP が0.007, IgM が0.28であり、FRK 値と ALT, IgM とは軽い相関が見られた（図1）。自己抗体（AMA, gp210抗体, セントロメア抗体）との関連性では明かな相関は見られなかったが、1例の FRK, gp210共に高値を示す症例を除いて、gp210抗体高力価の患者は FRK 値は低値であり、FRK 高値の患者は gp210抗体は陰性であった（図2）。

図1 PBC患者血清中FRK vs ALT, ALP, IgM (治療前データ)

