

症例にとっては600mg/日ですでに至適投与量となっていた可能性が否定できない。

したがって、ベザフィブラートはPBCに保険適用がないこと、横紋筋融解症など重篤な副作用の発現頻度が高いことをも踏まえると、UDCA不応例に対する対策としては、まず患者の体重を考慮し、50~60kgを超えるような症例であれば、「PBC診療ガイドライン」⁶⁾にも記載されている通り、まずUDCAを900mgに増量すべきである。ちなみに、AASLDガイドラインでは、UDCAの13~15mg/kgという投与量が重要であることを記載し、次いでUDCAの効果が不十分な時に検討すべきこととして、服薬コンプライアンス、他の肝疾患の合併の可能性を検討すべきである、と記載されている。

おわりに

以上、PBCのUDCA不応例への対策について概説した。UDCAの治療効果判定を行う時期は本邦では治療開始後3~6カ月が大半であり、欧米の主流である1年後よりかなり早くなっているが、これはおそらく、本邦ではUDCAに続いてベザフィブラートという第2選択薬が頻用されるのに対し、欧米ではUDCAを除きPBCに対して推奨される薬剤が存在しないことが主な理由かもしれない。しかし、以上みてきたように、PBCの長期予後改善を期待する薬物治療として確立されているのはUDCAの13~15mg/kg投与という治療しか存在しない現状では、UDCA治療開始後3~6カ月という早い段階でベザフィブラートを追加するのではなく、UDCA単剤で、必要があれば増量しながら、1年程度経過をみるのが妥当ではないかと筆者は考えている。もちろん、ベザフィブラートの生化学的改善効果は周知の事実であり、今後、大規模な臨床試験を行って長期予後改善効果を立証し、UDCAに次ぐ第2選択薬としての地位を確立させるための努力は必要不可欠である。

本論文内容に関連する著者の利益相反

: なし

文 献

- 1) Lindor KD, Poupon R, Poupon R, et al: Ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis. *Lancet* 355; 657-658: 2000
- 2) Poupon RE, Lindor KD, Cauch-Dudek K, et al: Combined analysis of randomized controlled trials of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 113; 884-890: 1997
- 3) Shi J, Wu C, Lin Y, et al: Long-term effects of mid-dose ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Gastroenterol* 101; 1529-1538: 2006
- 4) Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, et al: Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 50; 291-308: 2009
- 5) European Association for the Study of the Liver: EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol* 51; 237-267: 2009
- 6) 厚生労働省難治性疾患克服事業「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班: 原発性胆汁性肝硬変(PBC)の診療ガイドライン, 2012
- 7) 戸田剛太郎, 田中直見, 池田有成, 他: ウルソデオキシコール酸(UR-PBC錠)の原発性胆汁性肝硬変に対する臨床評価 用量設定試験. *肝・胆・膵* 37; 443-460: 1998
- 8) Corpechot C, Abenavoli L, Rabahi N, et al: Biochemical response to ursodeoxycholic acid and long-term prognosis in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 48; 871-877: 2008
- 9) Parés A, Caballería L, Rodés J: Excellent long-term survival in patients with primary biliary cirrhosis and biochemical response to ursodeoxycholic Acid. *Gastroenterology* 130; 715-720: 2006
- 10) Kuiper EM, Hansen BE, de Vries RA, et al: Improved prognosis of patients with primary biliary cirrhosis that have a biochemical response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology* 136; 1281-1287: 2009
- 11) Azemoto N, Kumagi T, Abe M, et al: Biochemical response to ursodeoxycholic acid predicts long-term outcome in Japanese patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res* 41; 310-317: 2011
- 12) Corpechot C, Chazouillères O, Poupon R: Early primary biliary cirrhosis: biochemical response to treatment and prediction of long-term outcome. *J Hepatol* 55; 1361-1367: 2011
- 13) Rudic JS, Poropat G, Krstic MN, et al: Bezafibrate for primary biliary cirrhosis. *Cochrane Database Syst Rev* 1; CD009145: 2012

- 14) Takeuchi Y, Ikeda F, Fujioka S, et al: Additive improvement induced by bezafibrate in patients with primary biliary cirrhosis showing refractory response to ursodeoxycholic acid. *J Gastroenterol Hepatol* 26; 1395-1401: 2011
- 15) Halliday JS, Chapman RW: No more pilots, a phase III trial of fibrates in primary biliary cirrhosis is long overdue! *J Gastroenterol Hepatol* 26; 1345-1346: 2011
- 16) Honda A, Ikegami T, Nakamuta M, et al: Anticholestatic effects of bezafibrate in patients with primary biliary cirrhosis treated with ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 2012 doi: 10.1002/hep.26018. [Epub ahead of print]

〔論文受領, 2012年10月17日〕
〔受理, 2012年10月18日〕

2013-02-19

原発性胆汁性肝硬変(PBC)の診療ガイドライン

執筆年月日:2012年11月

掲載年月日:2013年2月19日

原発性胆汁性肝硬変(PBC)の診療ガイドライン

石橋大海

国際医療福祉大学 教授

小森敦正

国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター・病態制御研究室長

ポイント

- 我が国の医療事情を考慮した原発性胆汁性肝硬変(PBC)の診療ガイドラインが初めて作成された。
- 5年ぶりに改訂されたPBC診断基準、組織学的病期・活動度を的確に診断するための新分類、および予後を考慮し病態の進展形式により3つに分類された病型分類が記載されている。
- PBC-AIH オーバーラップ症候群に対する副腎皮質ステロイド投与のための指針が記載されている。

背景・目的

原発性胆汁性肝硬変(PBC)の診療ガイドラインが、厚生労働省難治性疾患克服研究事業「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班によって作成された¹⁾。既に米国肝臓学会、ヨーロッパ肝臓学会でガイドラインは出されていたが、我が国の診療実情を考慮したガイドラインとして作成されたものである。PBCは稀少疾患であるため、エビデンスレベルの高い資料は国内外とも少ないが、よりエビデンスレベルが高い文献を参考に、我が国における診療の実情を踏まえて、研究班員間でコンセンサスを得る方法で作成されている。

取り上げられた最新の知見

1. 新診断基準: 原発性胆汁性肝硬変(PBC)の診断基準は、1981年、厚生省特定疾患難治性の肝炎調査研究班において最初に作成され、1992年、2005年に改訂された。この度、5年ぶりに研究班において改訂されたものが掲載されている¹⁾。主な改訂点は、疾患の概念が明確に記述され、症候性PBC(sPBC)を血清総ビリルビン値濃度で2.0mg/dl未満と以上のそれぞれs1PBCとs2PBCとに分類されたことであり、診断基準も最新の医療に合わせてより明確となっている。
2. 新しい病期・活動度分類: PBC肝の組織学的特徴とされる肝病変の不均一な分布によるサンプリングエラーを最小限にするように工夫されたNakanumaらによる新しい分類²⁾が採用され、本分類の使用が推奨されている。
3. 病型分類: PBCの進展形式が、長い期間の無症候期を経て徐々に進行する緩徐進行型、黄疸を呈することなく食道静脈瘤が比較的早期に出現する門脈圧亢進症型と、早期に黄疸を呈し肝不全に至る黄疸肝不全型の3型に分類されることが記載された³⁾。
4. PBC-AIH オーバーラップ症候群—ステロイド投与のための診断指針: PBCの特殊な病態であるPBC-AIH オーバーラップ症候群に対する副腎皮質ステロイドの投与基準が、本研究班の研究成果として示された⁴⁾。

臨床上の意義

1. 改訂された診断基準: 今回の改訂で疾患の概念が明確に記述されるとともに、症候性PBC (sPBC) がPBCの重症度として重要な指標である総ビリルビン濃度でs1PBCとs2PBCとの2つに分類されたことで、臨床的にも有用である。
2. 新病期・活動度分類: PBCでは肝内の部位により病理組織像が異なるため、肝針生検ではサンプリングエラーの問題が常につきまとい、従来使用されてきた Scheuer 分類、Ludwig 分類による病期分類には限界があった。今回採用されたNakanumaらによる新しい分類は病変の不均一な分布によるサンプリングエラーを最小限にするように工夫されており、より正確に組織学的病期を診断できるようになされている。
3. 病型分類: PBCの進展は各人によって異なる。多くの症例は徐々に進行するが、一部の典型的な症例はPBCの病態が短期間で進行し、肝不全に至る。一方、黄疸は呈していないものの、組織学的には既に肝硬変に進展し、胃食道静脈瘤等門脈圧亢進症所見が生じている症例がみられる。このようにPBCの経過は、病態、進展形式によって、緩徐進行型、門脈圧亢進症型、および黄疸肝不全型の大きく3型に分類されることが記述されている。黄疸肝不全型は比較的若年者に認められる、一方、門脈圧亢進症型は肝細胞癌を併発しやすい等、それぞれの型による特徴もみられ、予後の推測にも有用である。Nakamuraら⁵⁾により抗gp210抗体は黄疸肝不全型と、抗セントロメア抗体は門脈圧亢進症型との関係が報告されている。
4. PBC-AIH オーバーラップ症候群に対するステロイド投与のための診断指針: PBC-AIH オーバーラップ症候群は、副腎皮質ステロイドの投与により肝炎症状の改善が期待できる。本指針によりステロイド治療の適応がより明確に判断できることとなる。

本ガイドラインの限界と問題点、および今後の課題

PBCは、抗ミトコンドリア抗体が陽性である典型例の診断はさほど困難ではない。しかし、鑑別すべき周辺領域の疾患は多くあるため、より特異的な診断マーカーが望まれるところである。近年、全ゲノム包括的遺伝子研究GWASも含め、遺伝子マーカーの研究が盛んになっているが、本疾患に特異的な診断マーカーが同定されることが期待される。PBC-AIHオーバーラップ症候群は、未だ複数の定義が提唱されており、真のコンセンサスは得られていない。本ガイドラインでも本症候群の診断基準を呈示する必要がある。治療に関して、UDCAの投与開始時期、患者個別の至適投与量、投与中止時期、UDCAの効果判定時期、Bezafibrateの具体的併用時期等についても示されており、今後の課題である。

文献

- 1) 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班編: 原発性胆汁性肝硬変(PBC)の診療ガイドライン(2012年), 肝臓 2012;53(10):633-686. (CiNii)
- 2) 中沼安二, 石橋大海, 滝川 一, 坪内博仁: PBCの新しい病期・活動度分類の提案. 日本消化器病学会雑誌 2011;108(11): 1817-1822. (CiNii)
- 3) Ishibashi H, Komori A, Shimoda S, et al. Risk factors and prediction of long-term outcome in primary biliary cirrhosis. Intern Med. 2011;50(1):1-10. (PubMed)
- 4) Tanaka A, Harada K, Ebinuma H, et al. Primary biliary cirrhosis - Autoimmune hepatitis overlap syndrome: A rationale for corticosteroids use based on a nation-wide retrospective study in Japan. Hepatol Res. 2011;41(9): 877-886. (PubMed)
- 5) Nakamura M, Kondo H, Mori T, et al. Anti-gp210 and anti-centromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis. Hepatology. 2007;45(1):118-27. (PubMed)

* トピックスは、診療ガイドラインの標準的な作成手法に基づくものではありませんが、Mindsが専門家に依頼し、執筆時点での新しい話題について執筆していただいたものです。日本医療機能評価機構 Mindsの公式見解を示すものではありません。

総説

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) 診療ガイドライン作成を通して

石橋 大海¹⁾²⁾ 小森 敦正²⁾

要旨：厚生労働省難治性疾患克服研究事業「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班として、「原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の診療ガイドライン (2012年)」が作成された。研究班で策定された診断基準や治療指針が掲載されるとともに、具体的な診断・治療の指針が推奨度とともに記載されている。本疾患は稀少疾患であるため国内外においてエビデンスレベルの高い資料は少ないが、わが国における実情を踏まえ、よりエビデンスレベルが高い文献を参考に研究班員間でコンセンサスを得る方法で作成された。既に日本肝臓学会雑誌「肝臓」に掲載され、難病情報センターおよび医療情報サービス Minds のホームページ上で閲覧可能である。

索引用語：原発性胆汁性肝硬変, PBC, 診療ガイドライン, 診断, 治療

はじめに

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) は、慢性進行性胆汁うっ滞性の肝疾患である。本疾患は稀少疾患であり、一般医が遭遇することは決して多くはないが、最初に患者が訪れるのは第一線の医療機関である。本疾患の知識と理解、および本疾患特異的自己抗体である抗ミトコンドリア抗体 (AMA) 測定の普及で、PBC の典型例は比較的容易に診断できるようになった。しかし、典型的症候を呈さない症例やいくつかの病態が重複した症例、あるいは他の胆汁うっ滞性疾患との鑑別が困難な症例が存在し、的確に診断されないまま経過がみられている患者がいる。また、PBC の診断が得られた場合でも、治療として現在第1選択薬となっているウルソデオキシコール酸 (UDCA) の投与開始時期、無効症例に対する対策、薬物の継続期

間など、具体的な対応に迷うことも少なくなく、不適切な治療を受けている患者もいる。さらに、経過を観察する上ではどういう点に気をつけ、どういう場合に専門医あるいは移植医に相談したらよいかについても、今までわかりやすい指針が示されておらず、臨床の現場で参考にすべき指針の存在が望まれていた¹⁾。

この度、厚生労働省難治性疾患克服研究事業「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班(班長：坪内博仁)、PBC 分科会 (分科会長：中沼安二)として、「原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の診療ガイドライン (2012年)」が作成された。本診療ガイドラインは、既に難病情報センターおよび医療情報サービス Minds (マインズ) のホームページ上で公開されており、日本肝臓学会の機関誌「肝臓」にも掲載されているが²⁾、広く認識いただく

1) 国際医療福祉大学/福岡山王病院 2) 国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター
Development of the clinical practice guideline of primary biliary cirrhosis (PBC)
Hiromi ISHIBASHI¹⁾²⁾ and Atsumasa KOMORI²⁾

1) International University of Health and Welfare/Fukuoka Sanno Hospital, 2) National Hospital Organization Nagasaki Medical Center, Clinical Research Center

Corresponding author : 石橋 大海 (hiishibashi-gi@umin.ac.jp)

ために、本診療ガイドライン作成の目的や、作成上の狙い、ポイントを紹介する。

I 診療ガイドライン作成の対象と目的

厚生労働省調査研究で作成した診療ガイドラインは、PBCの診療を専門としていないが、本疾患の患者に遭遇する機会を有すると考えられる一般診療医・消化器医を主な対象として、これらの医師が、実際の診療において必要とされる事項について、でき得る限りエビデンスを参考にして作成したものである。

II ガイドライン作成上の問題点と対応

PBCは、罹患している患者数が少ないこともあり、多数例を対象とした研究論文は、国内においても海外においても少ない。特に日本人患者を対象としたエビデンスレベルの高い研究論文は、ほとんどみられない。また、UDCAが、長期間の議論の末予後延長効果が認められ、PBCの標準的治療薬として認められたが、PBC治療への適応の開始前と後では患者の予後も治療方針も大きく変わった。2009年には、その点を踏まえたPBCないしは慢性胆汁うっ滞性肝疾患の診療ガイドラインが、それぞれ米国肝臓学会 AASLD³⁾ およびヨーロッパ肝臓学会 EASL⁴⁾ より発表された。本診療ガイドラインでは、それらのガイドラインも参考にしながら、わが国の実情も考慮した推奨度を有するガイドライン作りを行った。作成案は作業チーム間で頻繁に意見を交換し、コンセンサスを得た。最終案は研究班員全員に送付して、コメントを募り修正を加えてコンセンサスを得た。2011年度の研究班会議で了承後、1年間難病情報センターのホームページに掲示し、その間寄せられたコメントを参考に修正したものが2012年版である。

III エビデンスとなる文献の検索

PBCの治療、合併症の治療、経過観察、肝移植時期と移植医へのコンサルト時期については、PubMed-MEDLINEでclinical trial, RCT, meta-analysis, 01/1998~12/2009, "primary biliary cirrhosis"をキーワードとし、English文献の検索を行った。その結果、UDCAに関する臨床試験を除いて、エビデンスレベルIb以上のものはみ

られなかった。治療薬のUDCAについては、1987年のPouponらのLancetの論文を嚆矢に、多くのランダム化比較試験、メタアナリシスが行われた。その結果、血液生化学値の改善のみでなく、死亡・肝移植までの期間をエンドポイントとした予後の改善ももたらすと結果が得られた。主要な論文は巻末に示した。

IV ガイドラインの記載方針

PBC患者の治療においては、PBC自体に対する基本的な治療とともに、症候や合併症、病期、病型に合わせた治療を行う必要がある。そのため、記載は大きく、診断の前後、すなわち、「I. 診断・病態把握」と、「II. 治療・患者管理」に分けた。PBCの疫学や発症機序など、診断、治療に直接関係のない背景については、クリニカルクエストンとして後半に記載した。なお、推奨文の最後に記載するエビデンスレベルと推奨のグレード分類は医療情報サービス Minds の記載に拠った。

V PBCの診断と治療方針の決定

PBCを疑うきっかけとなるのは、原因不明の黄疸、原因不明のアルカリホスファターゼ(ALP)、 γ -GTPの上昇、肝機能異常あるいは膠原病や自己免疫疾患で肝機能障害がみられるためAMAを測定したところ偶々陽性であった場合、皮膚掻痒感がある場合、等々である。このような場合、まずはPBCの確定診断を行う必要がある。そして一旦PBCという診断名を下した後は、適切な診療を行うために、症候の把握、病期、重症度の判定、合併症有無の把握、予後予測を行うことが重要である。

「I. 診断・病態把握」では、PBCを疑った時に患者の診断を進めていく方法、すなわち、診断を進めていく過程で確認すべきことを記載した。診断にあたっては、PBCの診断のみでなく、鑑別・除外すべき疾患を適切に鑑別・除外する、患者の症候を把握して病期、重症度を診断する、さらに合併症を把握する、そして病型を判断して予後を予測することが重要である。これらの把握によって、各患者に対して個別の対応を行うことができる。

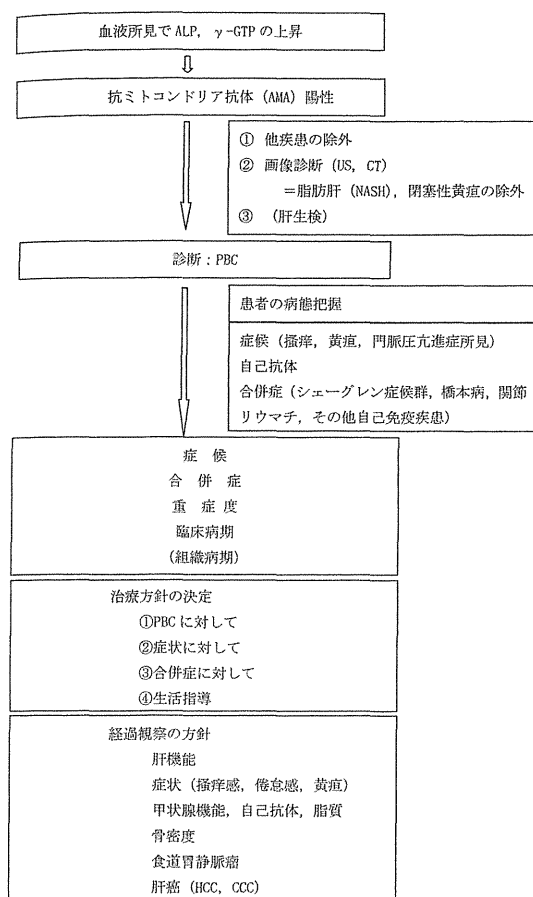


Figure 1. PBC 診断, 治療方針決定のためのフローシート.

治療に関しては, PBC に対する治療のみではなく, 症状, 病期, 重症度, 合併症の有無に応じて治療方針を決定する必要がある. 本診療ガイドラインでは, これらの点も考慮して作成した.

「II. 治療・患者管理」で, PBC に対する基本的な治療とともに, 各患者に応じた患者指導, 各種病態に対する治療, 症候・合併症の対策を記載した. PBC は長期にわたる疾患であり, しかも進行性であるため長期間の経過観察が重要である. どのような項目に関して特に注意を払って経過をみる必要があるのか, PBC に特有な点を理解しておく必要がある. また, 経過をみていく過程で, 専門医へのコンサルトが望ましい時期も認識しておく必要がある.

VI PBC 診断, 治療方針決定のための手順およびサマリーシート

本文に引き続いて, 診断, 治療方針決定のためのフローシート (Figure 1) およびサマリーシートを挿入した. PBC の特徴的な症状は「皮膚掻痒感」であるが, 現状では本症状を訴えて来院し, 診断がなされる機会は非常に少なく, 実際には「血液所見でALP, γ -GTPの上昇」がみられる場合である. そのため, 「ALP and/or γ -GTPの上昇」を「PBC 診断, 治療方針決定のため」の出発点とした.

VII PBC 診療のクリニカルクエスト

診断, 治療に直接に関係のない, PBC という疾患そのものについての解説は, 「クリニカルクエスト」に記載した. 概念や本研究班が数年毎に行っている全国調査の成績に基づく疫学, 基本的な臨床事項は「I. 基本的事項」にまとめた. 患者からの質問が多いであろうと思われる「どのような人が罹りやすいのか?」「遺伝するか?」「どのような経過をたどるか?」もクリニカルクエストとして挙げた. 「II. PBC の診断」では, PBC を専門としていない医師にも共通しての疑問と思われる「PBC の診断に肝生検は必要か?」「PBC の診断に画像診断は必要か?」というクリニカルクエストを挙げた. 「III. PBC の薬物治療」では, 第1選択薬とされているUDCAに関して参考資料に文献を挙げ, 具体的な疑問に関して解説した. さらに, UDCAが無効な場合の選択薬とされているBezafibrateに関して, 具体的な投与方法について解説した. 副腎皮質ステロイド以外の免疫抑制薬についてはエビデンスが少なく, コンセンサスが得られているものはほとんどないので, 簡単な解説にとどめた. 合併症の治療に関しては「IV. 合併症の薬物治療」として記載した. PBC は稀少疾患であり, さらに同じ症状を呈する患者を単一施設で集めることが困難であるため, エビデンスレベルの高い論文は残念ながらわが国においてはほとんどみられない. 外国のエビデンスレベルの高い文献を参考にし, 日本の専門医が通常行っている方法について, 本疾患を専門とする委員間でのコンセンサス

Table 1. 原発性胆汁性肝硬変の診断基準（平成 22 年度）（「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班原発性胆汁性肝硬変分科会，2011 年 3 月）

<p>概念</p> <p>原発性胆汁性肝硬変（primary biliary cirrhosis, 以下 PBC）は，病因・病態に自己免疫学的機序が想定される慢性進行性の胆汁うっ滞性肝疾患である。中高年女性に好発し，皮膚掻痒感で初発することが多い。黄疸は出現後，消退することなく漸増することが多く，門脈圧亢進症状が高頻度で出現する。臨床上，症候性（symptomatic）PBC（sPBC）と無症候性（asymptomatic）PBC（aPBC）に分類され，皮膚掻痒感，黄疸，食道胃静脈瘤，腹水，肝性脳症など肝障害に基づく自他覚症状を有する場合は，sPBC と呼ぶ。これらの症状を欠く場合は aPBC と呼び，無症候のまま数年以上経過する場合がある。sPBC のうち 2mg/dl 以上の高ビリルビン血症を呈するものを s₂PBC と呼び，それ未満を s₁PBC と呼ぶ。</p> <p>1. 血液・生化学検査所見</p> <p>症候性，無症候性を問わず，血清胆道系酵素（ALP，γ GTP）の上昇を認め，抗ミトコンドリア抗体（antimitochondrial antibodies, 以下 AMA）が約 90% の症例で陽性である。また，IgM の上昇を認めることが多い。</p> <p>2. 組織学的所見</p> <p>肝組織では，肝内小型胆管（小葉間胆管ないし隔壁胆管）に慢性非化膿性破壊性胆管炎（chronic non-suppurative destructive cholangitis, 以下 CNSDC）を認める。病期の進行に伴い胆管消失，線維化を生じ，胆汁性肝硬変へと進展し，肝細胞癌を伴うこともある。</p> <p>3. 合併症</p> <p>慢性胆汁うっ滞に伴い，骨粗鬆症，高脂血症が高率に出現し，高脂血症が持続する場合に皮膚黄色腫を伴うことがある。シェーグレン症候群，関節リウマチ，慢性甲状腺炎などの自己免疫性疾患を合併することがある。</p> <p>4. 鑑別診断</p> <p>自己免疫性肝炎，原発性硬化性胆管炎，慢性薬物性肝内胆汁うっ滞，成人肝内胆管減少症など。</p> <p>診断</p> <p>次のいずれか 1 つに該当するものを PBC と診断する。</p> <p>1) 組織学的に CNSDC を認め，検査所見が PBC として矛盾しないもの。</p> <p>2) AMA が陽性で，組織学的には CNSDC の所見を認めないが，PBC に矛盾しない（compatible）組織像を示すもの。</p> <p>3) 組織学的検索の機会はないが，AMA が陽性で，しかも臨床像及び経過から PBC と考えられるもの。</p>
--

を得て，記載した。

PBC は長期にわたる疾患であり，さらに多くの症例が緩徐に進行する慢性疾患である。どのような点に注意し，どのように経過をみていくかについても指針が必要とされる。「V. PBC 患者の経過観察」として PBC 患者の経過観察の方法を記載した。経過観察する上で具体的に必要検査項目や注意点を解説した。また，肝臓専門医あるいは肝移植医へのコンサルテーションすべき時期についても解説した。最後に，「VI. 肝移植適応基準」として，肝移植の適応決定，実施時期および肝移植後患者の管理の仕方に関して，クリニカルクエストを挙げ，解説を加えた。

VIII 本診療ガイドラインに取り入れられた新たな事項

1. 診断基準

従来，基準にされていた「PBC の診断基準」は，厚生省「難治性の肝炎」調査研究班により 1992

年に呈示され，2005 年に改訂された。今回，本研究班により「原発性胆汁性肝硬変の診断基準（平成 22 年度）」（Table 1）として 5 年振りに改訂された。2005 年版の主な改訂点は，症候性 PBC と無症候性 PBC の違いの重要な点である「肝障害に基づく自他覚症状」として，皮膚掻痒感，黄疸，腹水，肝性脳症に加え，「食道胃静脈瘤」が明記されたことであった。従来，食道胃静脈瘤を認める肝硬変であるにもかかわらず皮膚掻痒感，黄疸がないため「無症候性 PBC」とされていた可能性がある症例も，明白に症候性 PBC に分類されることになった。今回さらに，症候性を客観的な指標である血清総ビリルビン値で，2.0mg/dl 以上が s₂PBC，2.0mg/dl 未満は s₁PBC と定義された。

2. 新しい組織診断

PBC では肝内の部位により病理組織像が異なることが知られている。そのため，肝針生検では

Table 2. PBC の組織病期

1期；Stage 1 (S1) (no progression)
2期；Stage 2 (S2) (mild progression)
3期；Stage 3 (S3) (moderate progression)
4期；Stage 4 (S4) (advanced progression)
非進行期；炎症性病変が門脈域に限局，軽度，中等度；中間的な段階，高度進行期；肝硬変。

Table 3. PBC の組織学的病期分類 (Nakanuma ら, 2006 年, 厚労省研究班, 2010 年)

1. PBC 組織病期評価のための組織病変とスコア			
A. 線維化	Score	B. 胆管消失	Score
門脈域での線維化がないか，あるいは線維化が門脈域に限局	0	胆管消失がない	0
門脈域周囲の線維化，あるいは不完全な線維性隔壁を伴う門脈域線維化	1	1/3 以下の門脈域で胆管消失をみる	1
種々の小葉構造の乱れを伴う架橋性線維化	2	1/3 ~ 2/3 の門脈域で胆管消失をみる	2
再生結節と高度の線維化を伴う肝硬変	3	2/3 以上の門脈域で胆管消失をみる	3
2. 線維化 (A) と胆管消失 (B) スコアの合計による病期診断 (Staging)			
Stage	A. 線維化, B. 胆管消失 各スコアの合計		
Stage 1 (no progression)	0		
Stage 2 (mild progression)	1 ~ 2		
Stage 3 (moderate progression)	3 ~ 4		
Stage 4 (advanced progression)	5 ~ 6		
※オルセイン染色がある場合は C. オルセイン陽性顆粒沈着の程度を評価に加える。			
3. オルセイン染色の評価を加えた病期診断 (Staging)			
	C. オルセイン陽性顆粒沈着		Score
	陽性顆粒の沈着なし		0
	1/3 以下の門脈域の周辺肝細胞 (少数) に陽性顆粒の沈着をみる		1
	1/3 ~ 2/3 の門脈域の周辺肝細胞 (種々の程度) に陽性顆粒の沈着をみる		2
	2/3 以上の門脈域の周辺肝細胞 (多数) に陽性顆粒の沈着をみる		3
Stage	A. 線維化, B. 胆管消失, C. オルセイン陽性顆粒沈着 各スコアの合計		
Stage 1 (no progression)	0		
Stage 2 (mild progression)	1 ~ 3		
Stage 3 (moderate progression)	4 ~ 6		
Stage 4 (advanced progression)	7 ~ 9		

サンプリングエラーの問題が常につきまとい，従来使用されてきた Scheuer 分類，Ludwig 分類による病期分類には限界がある。そのため，病変の

不均一な分布によるサンプリングエラーを最小限にするように工夫された Nakanuma らによる新しい分類 (2009 年) (Table 2, 3)⁵⁾が採用され，

本組織学的病期分類の使用が推奨された。

3. 病型の提唱

PBCの進展は各人によって異なるが、大きく分けて3型に分類される。多くは長い期間の無症候期を経て徐々に進行するが(緩徐進行型)、黄疸を呈することなく食道静脈瘤が比較的早期に出現する症例(門脈圧亢進症型)と、早期に黄疸を呈し、肝不全に至る症例(黄疸肝不全型)がみられる。門脈圧亢進症型は抗セントロメア抗体の、黄疸肝不全型は抗gp210抗体の陽性率が高いとの研究成果もあることから、本病型を認識することにより、患者の予後をある程度予測できる。また、経過観察中の注意点も病型別に異なることが理解できる。

4. PBC-AIH オーバーラップ症候群に対するステロイド投与のための診断指針

PBCの特殊な病態として、肝炎の病態を合わせ持ちALTが高値を呈する、PBC-AIH オーバーラップ症候群がある。副腎皮質ステロイドの投与によりALTの改善が期待できるため、PBCの亜型ではあるが、PBCの典型例とは区別して診断する必要がある。本研究班では、班員間で集積した本症候群症例を解析し、指針を策定した⁶⁾。本指針によりAIHの病態を合わせ持つPBC-AIH オーバーラップ症候群と診断されれば、ステロイド治療の適応と判断され、副腎皮質ステロイドの投与が推奨される。

IX 本ガイドラインの限界と問題点、および今後の課題

PBCは特異性、陽性率とも90%以上となる自己抗体であるAMAが出現し、その測定も広く普及しているため、他の特徴的な症候と病理組織学的所見がそろった典型例の診断はさほど困難ではない。しかしながら、鑑別すべき周辺領域の疾患は多くあるため、より特異的な診断マーカーが望まれるところである。近年、全ゲノム包括的遺伝子研究(genome-wide association study; GWAS)も含め、遺伝子マーカーの研究が盛んになっているが、本疾患に特異的な診断マーカーが同定されることが期待される。

PBC-AIH オーバーラップ症候群において、肝

炎症状が優位である時期は副腎皮質ステロイドによる治療が有効である。しかし、PBC-AIH オーバーラップ症候群について、その疾患概念はおおむね周知されているにもかかわらず、いまだ複数の定義が提唱されており、真のコンセンサスは得られていない。本ガイドラインでも本症候群の診断基準は呈示していないため、改訂時には示す必要がある。

治療に関して、UDCAの投与開始時期、患者個別の至適投与量、投与中止時期、UDCAの効果判定時期、Bezafibrateの具体的併用時期などについてはまだコンセンサスが得られておらず、これらも今後の課題である。合併症の治療法についても、研究班として検討してエビデンスを示し、さらに具体的、かつ詳細な治療法を、わが国における標準的治療法として呈示する必要がある。

おわりに

厚生労働省研究会議で策定した診療ガイドラインの要点を解説した。診療ガイドラインは、検査法、治療法の進歩とともに定期的に改訂する必要がある。現在の医学の進歩を考慮すると2、3年に1度は必要と考えられるが、大きく診療体系が変わるような時には、即刻改訂すべきと思われる。

本論文内容に関連する著者の利益相反
：なし

文 献

- 1) 厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班：原発性胆汁性肝硬変(PBC)の診療ガイド、文光堂、東京、2010
- 2) 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班：原発性胆汁性肝硬変(PBC)の診療ガイドライン(2012年)、肝臓 53;633-686:2012、厚生労働省難病情報センターホームページ <http://www.nanbyou.or.jp/>、医療情報サービス Minds(マインズ)ホームページ <http://minds.jcqhcr.jp/n/topics.php>
- 3) Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, et al: Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 50;291-308:

- 2009
- 4) European Association for the Study of the Liver :
EASL Clinical Practice Guidelines : management
of cholestatic liver diseases. J Hepatol 51 ; 237-
267 : 2009
 - 5) 中沼安二, 石橋大海, 滝川 一, 他 : PBC の新
しい病期・活動度分類の提案. 日本消化器病学
会雑誌 108 ; 1817-1822 : 2011
 - 6) Tanaka A, Harada K, Ebinuma H, et al : Primary

biliary cirrhosis - Autoimmune hepatitis overlap
syndrome : A rationale for corticosteroids use
based on a nation-wide retrospective study in Ja-
pan. Hepatol Res 41 ; 877-886 : 2011

(論文受領, 2012年10月5日)
受理, 2012年10月18日)

総 説

原発性胆汁性肝硬変の不思議—胆管障害の機序は？

石橋大海^{*1}, 下田慎治^{*2}

Pathogenesis of biliary tract injury in primary biliary cirrhosis

Hiromi ISHIBASHI^{*1} and Shinji SHIMODA^{*2}^{*1}International University of Health and Welfare^{*2}Medicine and Biosystemic Science, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences

(Received September 3, 2012)

summary

Primary biliary cirrhosis (PBC) is histologically characterized by chronic nonsuppurative destructive cholangitis (CNSDC) associated with destruction of small bile ducts. The pathogenesis of PBC, predominance of female, or the reason why biliary duct is selectively involved, however, remains unknown. Infectious or non-infectious noxious insults such as xenobiotic chemicals may precipitate in the individual having a genetic background of PBC. Activation of innate immune response seems to be a key event in early PBC, leading to the autoimmune injury of small intrahepatic bile duct. Biliary epithelial cells possess an innate immune system consisting of the Toll-like receptor (TLR) family and recognize pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). In PBC, dysregulated biliary innate immunity, namely hyper-responsiveness to PAMPs, is associated with the pathogenesis of cholangiopathy. Moreover, the targeted biliary epithelial cells (BEC) may play an active role in the perpetuation of autoimmunity by attracting immune cells via chemokine secretion. Biliary innate immune responses induce the production of two chemokines, CX3CL1 (fractalkine) and several Th1 shift chemokines, causing the migration of inflammatory cells including NK cells. TLR 4 ligand-stimulated NK cells destroy autologous BECs in the presence of interferon alpha (IFN- α) synthesized by TLR 3 ligand-stimulated monocytes. These findings give new insights in the pathogenesis of this mysterious disease, PBC.

Key words—Primary biliary cirrhosis; cholangitis; pathogenesis; innate immunity; fractalkine

抄 録

PBCは組織学的に小胆管の破壊をきたす慢性非化膿性破壊性胆管炎に特徴づけられる。しかし、PBCの成因は何か、なぜ女性優位であるのか、なぜ胆管が選択的に障害されるかなど未だ謎は多い。感染微生物あるいは化学物質 xenobiotics 等の刺激が、遺伝素因を有する個体においてPBC発症の誘因となることが想定される。胆管上皮細胞の組織障害は自己免疫反応により生じると考えられているが、病初期においては、自然免疫の活性化が鍵を握っている。胆管上皮細胞は Toll 様受容体 (TLR) を含めて自然免疫システムを有し、PBCにおいては PAMPs に対する過剰反応が胆管障害の原因とされる。胆管は、NK 細胞を含む免疫細胞の遊走にあずかるフラクタルカイン (CX3CL1) と周囲環境を Th1 シフトするいくつかのケモカインを産生し、ターゲットとなる胆管上皮細胞は、ケモカインによる誘導で浸潤した免疫細胞によって自己免疫反応を増強する。胆管周囲に集まる浸潤細胞の中でも、単球とNK細胞の役割は異なり、TLR4リガンドで刺激されたNK細胞は、TLR3リガンドで刺激された単球によって産生されたインターフェロン α の存在のもと、自己胆管上皮細胞を破壊する。このような新たに得られる知見で、PBC発症の不思議も明らかにされつつある。

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) は、慢性炎症による肝内小胆管の破壊のために進行性の黄疸を来し、究極的には肝硬変から肝不全を呈する肝疾患である。疾患特異的自己抗体 (抗ミトコンドリア抗体 (AMA), 抗 gp210 抗体等) の出現, および自己抗

原特異的 T 細胞の存在, 特徴的病理組織学的所見, 胆管に局限した選択的組織障害やその機序に自己免疫反応の関与が強く示唆されること, あるいは他の自己免疫疾患を高頻度に合併することなどから典型的な臓器特異的自己免疫性疾患とされている。しかし、発症の原因および胆管特異的な障害機序は明らかにされていない。近年、免疫学および分子遺伝学的解析の成果が集積しており、徐々にではあ

^{*1}国際医療福祉大学^{*2}九州大学大学院病態修復内科学

るが複雑な組織障害の機序が明らかとなりつつある。本稿では、この分野で精力的に研究を行っている Shimoda らの研究成果を中心に最近の知見を述べる。

PBC 発症と遺伝性

PBC の発症は、家族集積性のあること（患者同胞の発症危険率 10.7）や一卵性双生児における concordance rate がきわめて高い（0.63）ことなどから、強い遺伝的素因の関与が示唆されている^{1,2)}。しかし、一卵性双生児の片方が発症しない例があることは、PBC の発症が完全に遺伝のみで規定されているものではなく、環境因子も関与していることが示唆される。

疾患感受性遺伝子については、ヒト白血球抗原 (HLA) DRB1*0803 など免疫に関与する遺伝子が候補遺伝子として提唱されていた。近年、ゲノムワイド関連解析研究 (GWAS: genome-wide association study) による成果が種々の疾患で出されている。PBC においても 2009 年に初めて HLA の他に PBC 発症と関連する新たな疾患感受性遺伝子 (IL12A, IL12RB2, STAT4) がカナダから報告された³⁾。その後、その他の地域からも報告が相次ぎ⁴⁻⁷⁾、最近、日本からも全国規模の調査研究で、日本人特有の遺伝子候補が報告された⁸⁾。これらの研究結果からは、HLA の他に、IL12/IL12R シグナル伝達系、NFκB シグナル伝達系、TLR-TNF・シグナル伝達系の pathway などの重要性が明らかとなった。これらの HLA やシグナル伝達関連分子の多くは、他の自己免疫疾患との関連が示唆されている分子と重複しており、PBC の発症にも強く免疫が関連していることが確認された。

PBC 発症の環境要因

環境要因については、工業地帯の周辺や有毒廃棄物の廃棄施設近傍で有病率が高いという報告⁹⁾とともに、化粧品や食品添加物などの可能性を示唆する報告もなされている。PBC 患者血清はビルビン酸脱水素酵素 E2 コンポーネント (PDC-E2) の内側ドメインに存在する lysine 残基に種々の誘導体を結合した xenobiotics と患者血清との反応性が亢進しており、特に 2-オクト酸を結合したペプチドと強く反応する¹⁰⁾。2-オクト酸は化粧品や食品添加物に含まれていることから、これら日常品に含まれる物質によって PBC が惹起される可能性があること

が示唆されている。

これら xenobiotics の重要性は、動物モデルによっても示された。Gershwin ら¹¹⁾は、自己抗原である PDC-E2 に類似した xenobiotics を免疫することにより自己免疫性胆管炎を惹起するマウスモデルを開発した。マウスに 2-オクト酸を結合したウシ血清アルブミン免疫することにより、数系統のマウスで AMA の産生と門脈炎を生じている。

PBC 発症のトリガーとしては、PBC 患者では尿路感染症が多いことや PBC 患者血清は大腸菌成分と反応すること、さらには自己反応性 T 細胞が大腸菌抗原をはじめとする外来抗原にも交差反応性を呈する¹²⁾ことから、大腸菌の可能性が示唆されている。一方、PBC の肝組織の肉芽腫からは *Propionibacterium acnes* 菌の核酸成分が検出されている¹³⁾。また、自然界に広く存在し、有機物とエステロゲンを代謝する細菌 *Novosphingobium aromaticivorans* も発症のトリガーとなるとして提唱されている¹⁴⁾。ウイルスの関与についてもその可能性は提唱されているが、現在確固たるエビデンスがない。

女性優位性

PBC は他の多くの自己免疫疾患同様女性優位の疾患であり、男性患者の頻度は約 10% である。症候自体には男女差はみられないが、男性患者は食道静脈瘤および肝癌など生命予後不良な合併症の発生率が高いとされている。男女差を生じる原因として、性ホルモンや X 染色体の関与が提唱されているが¹⁵⁾、コンセンサスは得られていない。

特異的自己抗体と自己抗原

PBC に最も特徴的なことの一つは、細胞に普遍的に存在するミトコンドリア抗原に対する抗体 (AMA) が特異的 (90% 以上)、かつ高い頻度 (90% 以上) で陽性化することである。AMA の対応抗原はミトコンドリア内膜に存在するビルビン酸脱水素酵素複合体 (PDC) であり、PDC の E2 コンポーネント (PDC-E2) が主要対応抗原である。しかし AMA のみではなく、複数の核抗原に対する自己抗体も陽性化する。特に核膜孔蛋白である p62 蛋白と gp210 蛋白に対する自己抗体は特異性がさらに高く、共に患者の約 25% の頻度で陽性となる¹⁶⁾。これらの複数の自己抗原のそれぞれに対して特異的な自己抗体が作られることも“PBC の不思議”の一

つであるが、その出現の機序として、分子相同性 molecular mimicry による機序が想定されている。すなわち、各自己抗原の T 細胞認識部位の分子配列に相互に相同性がみられることにより、T 細胞が認識する分子が拡大するとされる¹⁷⁾。

胆管上皮細胞障害

AMA の対応抗原は広く存在するにもかかわらず PBC における組織障害が胆管に限られ、免疫細胞による傷害活性の標的が選択的に胆管上皮細胞であることも、PBC の大きな不思議の一つである。PBC の肝組織では、胆管周囲に免疫細胞が浸潤し、非化膿性破壊性胆管炎を呈して胆管上皮細胞の変性・破壊を来す。単核球の浸潤は胆管上皮層までみられることから、胆管上皮細胞の障害は浸潤した免疫細胞の作用によることが想定される。

胆管上皮細胞の特異性

胆管上皮細胞は免疫学的に特徴的な性状を有している。すなわち、胆管上皮細胞は MHC 分子を発現しているとともに、正常な PDC-E2 を発現している、また、サイトカインや TRAIL などのアポトーシスを誘導する因子の作用を受ける。Gershwin ら^{18,19)}は、胆管上皮細胞のアポトーシスの過程におけるミトコンドリア蛋白の特異な処理過程が、PBC における胆管の選択的障害の原因であることを想定した。彼らは、PDC-E2 が胆管上皮細胞のアポトーシスの過程でグルタチオン化の欠如のため分解されず、免疫学的に正常なままとどまり PDC-E2 apotope になることを観察した。彼らは、アポトーシス体に包含されている免疫学的に正常な PDC-E2 が AMA によって認識され、その結果形成された PDC-E2 apotope/AMA 複合体は自然免疫を刺激する。PDC-E2 は同時に抗原提示細胞にエンドサイトーシスにより取り込まれ、T 細胞に対する抗原となる。このように、障害された胆管上皮細胞から遊出したインタクトな PDC-E2 が異常な免疫反応を引き起こす。このような反応が遺伝的素因を有するヒトにおいて生じると PBC を発症することになると想定している²⁰⁾。

胆管上皮細胞障害と自然免疫

PBC 患者の胆管上皮細胞は Toll 様受容体 (TLR) と PAMPs (pathogen-associated molecular patterns : 病原体関連分子パターン) 等の自然免疫シ

ステムを有しており、PBC の胆管障害には自然免疫系が関与していることが示唆される²¹⁾。初期の PBC においては、肉芽腫の形成、好酸球反応あるいは IgM の上昇など、自然免疫系の活性化がみられる。CD11c 陽性肉芽腫の PBC 症例は血清 IgM レベルが高く、初期の病期でみられる²²⁾。PBC の肉芽腫は、CD11b, reduced MHC II, IL-23, CCR7, CD83 発現, elevated C1q 発現等の未熟な樹状細胞マーカーが陽性であり、B 細胞と IgM 陽性細胞は、マクロファージとともに PBC の肉芽腫周辺に顕著である。樹状細胞は肉芽腫形成の鍵であり、PBC 肉芽腫は樹状細胞と IgM の相互作用の結果生じたものと考えられる²³⁾。

胆管上皮細胞と肝浸潤単核球の役割

Shimoda ら²⁴⁾は、胆管上皮細胞障害における肝浸潤単核球の役割を検討するため、ヒト肝臓より胆管上皮細胞を分離採取し、ケモカイン産生能や細胞接着について解析した。ヒト胆管上皮細胞は下記の手順で採取した。すなわち、肝手術時あるいは移植時に無菌的に採取した肝臓組織をコラゲナーゼで懸濁し、密度勾配法で単核球分画を採取する。培養皿で一晩培養し、壁付着細胞をイムノビーズにて胆管上皮細胞 (CD31 陽性)、胆管上皮細胞 (EpCAM 陽性) を採取する。一方、肝臓浸潤単核球が含まれる浮遊細胞からは、リンパ球、単球、T 細胞、NK 細胞をそれぞれイムノビーズで選別する (図 1)。このようにして、彼らは PBC 患者と対照患者から分離採取した細胞を用いて、PBC 胆管上皮細胞の性質の特異性を検討した。

まず、PBC 由来胆管上皮細胞と対照群の胆管上皮細胞の性状を比較検討した。PBC の胆管上皮細胞

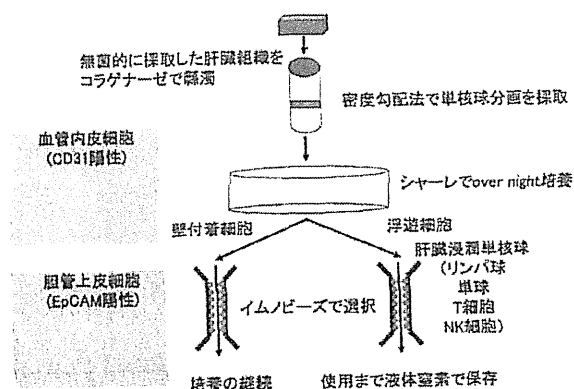


図 1 ヒト胆管上皮、血管内皮および肝臓浸潤単核球の分離法。

胞は TRL リガンド (Lipoteichoic acid (LTA), lipopolysaccharide (LPS), Poly I:C) で刺激することにより MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, IP-10/CXCL10 等のケモカインの産生を誘導した. PBC と疾患コントロールの患者

肝より採取した胆管上皮細胞との間で, それらケモカインの産生量に違いはみられなかった (図 2). しかし, TLR3 リガンド (Poly I:C) 刺激後の胆管細胞を自己肝臓浸潤単核球と共培養後の Th1 誘導ケモカインの産生をみると, MIP-1 α /CCL3, MIP-

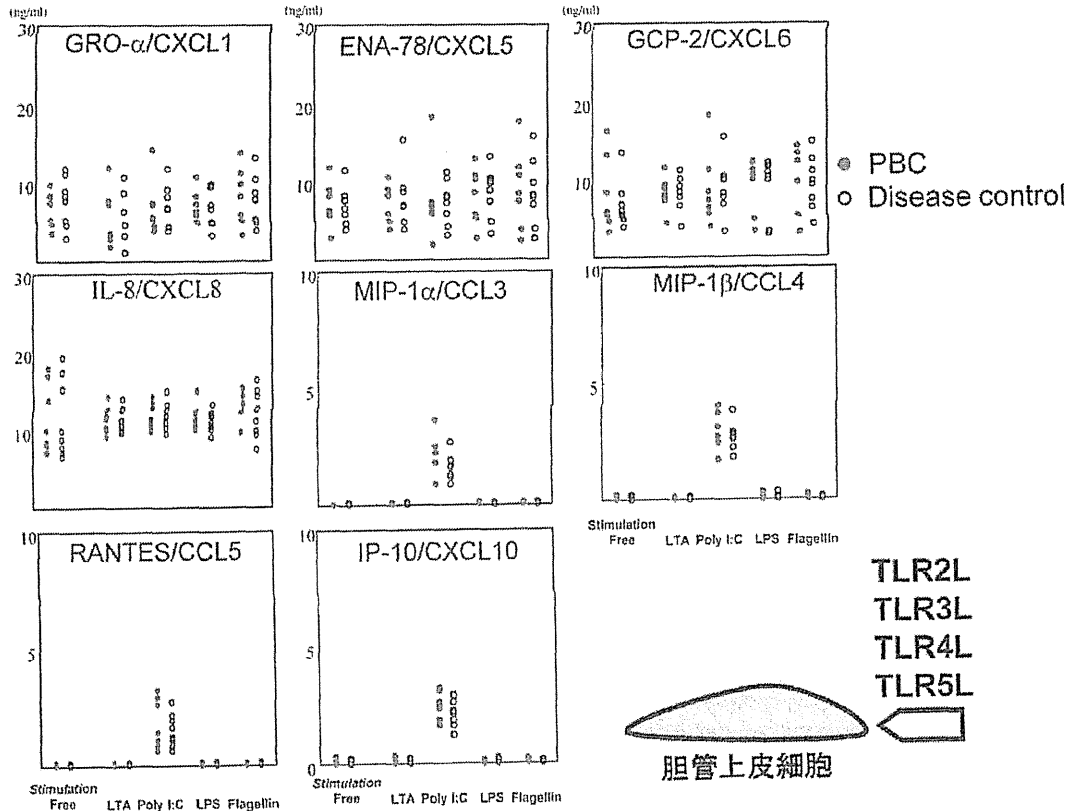


図 2 自然免疫リガンド刺激で胆管細胞が産生するケモカイン. 産生されたケモカインは ELISA によって測定した.

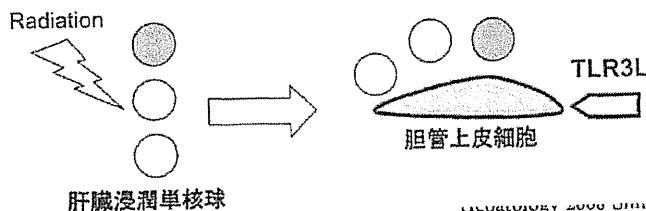
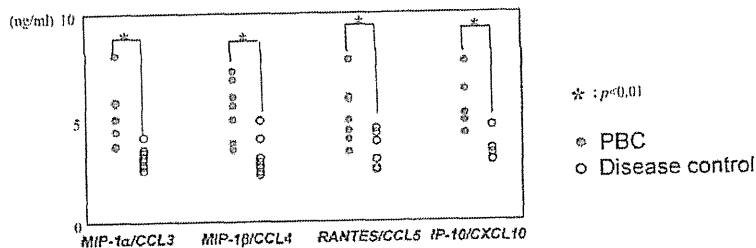


図 3 胆管上皮細胞による Th1 誘導ケモカイン産生能.

PBC 患者および対照患者より採取した胆管上皮細胞を Poly I:C (TRL3 リガンド) で刺激後, 放射線照射を行った自己肝臓浸潤単核球と共培養し, Th1 誘導ケモカイン産生能を測定した.

IP/CCL4, RANRES/CCL5, IP-10/CXCL10はいずれもPBC由来の胆管上皮細胞で有意に増強していた(図3)。これらの結果より、PBC由来胆管上皮細胞の性状は、PBC由来胆管上皮細胞が本来有している異常ではなく、肝浸潤単核球の介入によるものであることが推察された。

ケモカイン、フラクタルカイン、CX3CR1

免疫細胞は、細胞接着因子と細胞遊走因子活性により炎症部位やリンパ組織に到達するが、ケモカインは免疫反応のダイナミクスを決定する機構で重要な役割を果たしている。これらの細胞の血管内皮細胞を経由する組織浸潤過程は、多くの接着分子と細胞遊走因子によって病態や状況に応じて巧妙に制御されている。

フラクタルカインCX3CL1は、活性化内皮細胞に発現する膜結合型ケモカインで、ケモカインとしての細胞遊走活性と接着分子としての機能を併せ持つユニークな分子である^{25,26}。他のケモカインが分泌蛋白であるのに対し、フラクタルカインは膜蛋白として産生される。フラクタルカインは、N末端からケモカインドメイン、ムチンドメイン、膜貫通ドメイン、細胞内ドメインという構造をとっている。フラクタルカインは関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症などの自己免疫疾患において、その発症や病態に関与していることが想定されているが、関節リウマチ患者の関節滑液中では分泌型フラクタルカインが増加し、炎症細胞の活性化内皮細胞への接着や関節への浸潤あるいはサイトカイン産生に関与している。

フラクタルカインの受容体CX3CR1は、NK細胞や細胞傷害性T細胞などの細胞傷害性リンパ球と、成熟マクロファージや粘膜樹状細胞などの病原体や異常な細胞の排除に深く関わる免疫細胞に発現している。他のケモカイン受容体同様に7回膜貫通G蛋白共役型受容体ファミリーに属する。膜貫通部位のアミノ酸の多型が存在し、それにより疾患発症のリスクと相関することが示されている。

PBCとフラクタルカイン

PBCにおいては、フラクタルカインは末梢および肝臓局所において発現が亢進している。CX3CR1は肝門脈域浸潤リンパ球と傷害された上皮内のT細胞に発現しており、障害された胆管上皮細胞はフラクタルカインを発現している。

Shimodaら^{27,28}は、フラクタルカインをターゲットとして胆管細胞障害機序を検討した。すなわち、傷害の標的となる胆管上皮細胞自身がケモカイン(フラクタルカイン)を産生することにより免疫細胞を誘導して自己免疫反応を増強する役割を担っているのではないかと推論した。胆管上皮細胞および内皮細胞と浸潤リンパ球の接着によるフラクタルカインの産生の検討では、胆管上皮細胞はTNF- α とpoly(I:C)および自己肝臓浸潤単核球の存在下でフラクタルカインを産生した。また、TLR3リガンド(poly I:C)やTLR4リガンド(LPS)で刺激した内皮細胞には、フラクタルカインの発現亢進がみられたが、他のTLRリガンドではみられなかった。LPS刺激後のPBC由来血管内皮細胞および胆管上皮細胞は、疾患コントロール由来のそれらの細胞よりも強く自己肝臓浸潤単核球と強く接着した(図4)。このように、フラクタルカインはPBCにおいて、炎症を修飾する役割を担っていることが示唆され、フラクタルカインを阻害することが新たな治療戦略となることが示唆された。

胆管上皮細胞上へのフラクタルカイン発現増強は、単核球の直接の接触と同時に、単核球によるTNF α 分泌によるCX3CL1リガンドで促進される。胆管上皮細胞と、走下因子によって集積した免疫細胞とフラクタルカインの相互作用は、PBCにおける破壊性胆管炎を促進することが想定される。

胆管上皮細胞障害におけるNK細胞と単核球の役割

Shimodaら²⁹はさらに、胆管上皮細胞障害におけるNK細胞、単核球およびTLR、TLRリガンドの役割について検討した。その結果、1)肝臓浸潤単核球によるIFN α の産生は、PBCにおいて有意に増加している。2)NK細胞をTLR3リガンドおよびTLR4リガンドで刺激した肝臓浸潤単核球から分離した場合、肝NK細胞の細胞傷害活性は著明に増強している(図5)。3)TLR4リガンドで刺激したNK細胞は、TLR3リガンドで刺激した単核球で産生されるIFN α の存在のもとで自己胆管上皮細胞を傷害する。一方、PBC肝では病理組織学的にCD56陽性NK細胞が破壊された小胆管の周囲に散在している。これらの結果は、TLR3リガンドおよびTLR4リガンドによる刺激後の単核球とNK細胞の決定的な作用の相違を明らかにするとともに、PBCにおける胆管上皮細胞の障害機序にNK細胞が大きな役割を果たしていることを示すものである。

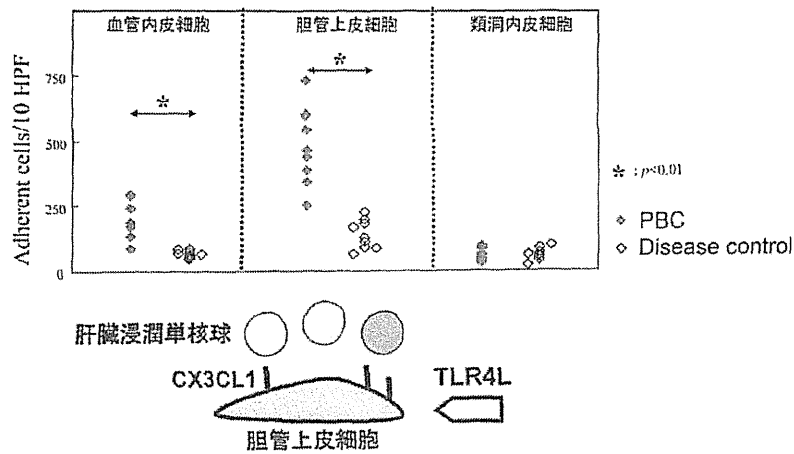


図4 血管内皮細胞, 胆管上皮細胞および類洞内皮細胞と自己肝臓浸潤単核球との細胞接着.
PBC患者および対照患者より採取した血管内皮細胞, 胆管上皮細胞および類洞内皮細胞をLPS (TLR4リガンド) で刺激後, 自己肝臓浸潤単核球との細胞接着率を測定した.

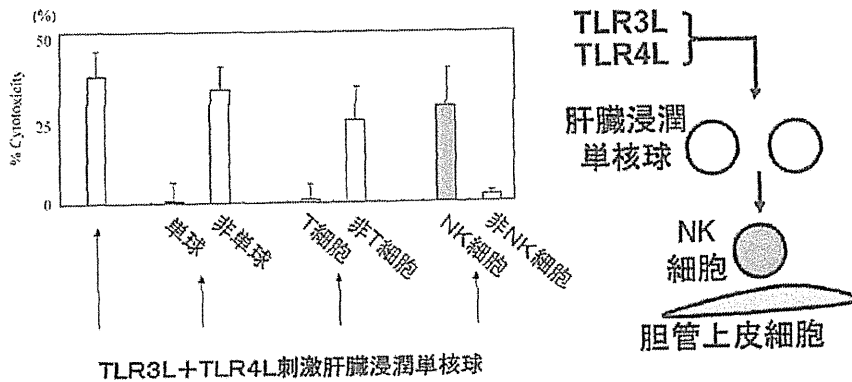


図5 NK細胞による胆管上皮細胞の傷害作用.
PBC患者より採取した肝浸潤単核球をPoly I:CおよびLPSで刺激後, 単球, T細胞, NK細胞およびそれぞれの細胞を枯渇した細胞集団とともに培養し, 細胞傷害活性を測定した.

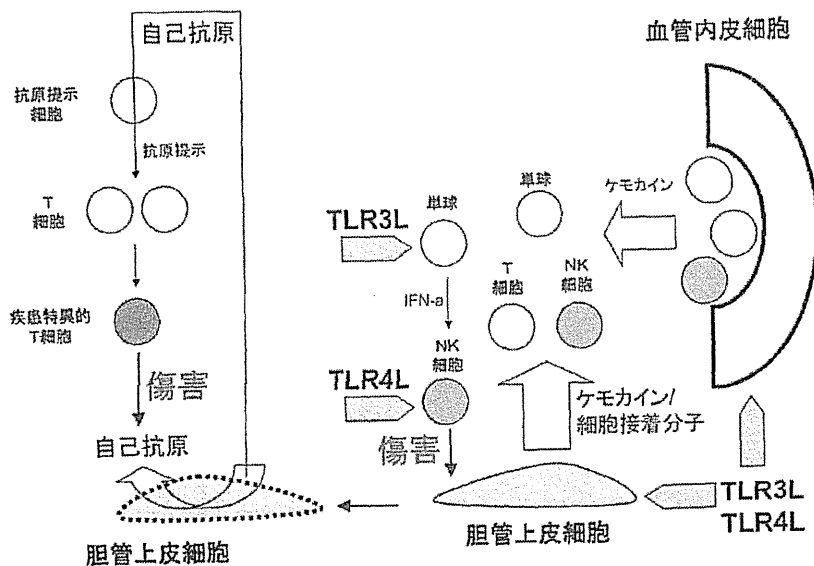


図6 原発性胆汁性肝硬変における慢性非化膿性破壊性胆管炎発現の機序 (仮説).

推測される胆管障害機序

以上の研究結果より, Shimoda らは, 胆管障害の機序として, 以下のように考えた. すなわち, (A) まず, 種々の TLR リガンド, 特に TLR3 リガンドおよび TLR4 リガンドは, 門脈内皮を刺激しフラクタルカイン CX3CL1 を産生する. (B) CX3CR1 陽性白血球は, 門脈から肝臓内に浸潤する. (C) TLR3 リガンドは, 胆管上皮細胞を刺激しフラクタルカイン CX3CL1 を産生する. (D) CX3CR1 陽性細胞が胆管周囲に浸潤する. (E) TLR3 リガンドが単球を刺激し IFN α 産生が亢進する. そして, (F) TLR4 リガンドからの刺激と IFN α からの刺激で NK 細胞による自己胆管細胞の破壊が始まる (図 6)²⁹⁾.

文 献

- 1) Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, et al. : Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology* 42 : 1194-1202, 2005.
- 2) Selmi C, Mayo MJ, Bach N, et al. : Primary biliary cirrhosis in monozygotic and dizygotic twins: genetics, epigenetics, and environment. *Gastroenterology* 127 : 485-492, 2004.
- 3) Hirschfield GM, Liu X, Xu C, et al. : Primary biliary cirrhosis associated with HLA, IL12A, and IL12RB2 variants. *N Engl J Med* 360 : 2544-2555, 2009.
- 4) Hirschfield GM, Liu X, Han Y, et al. : Variants at IRF5-TNPO3, 17q12-21 and MMEL1 are associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet* 42 : 655-657, 2010.
- 5) Liu X, Invernizzi P, Lu Y, et al. : Genome-wide meta-analyses identify three loci associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet* 42 : 658-660, 2010.
- 6) Juran BD, Lazaridis KN. : Update on the genetics and genomics of PBC. *J Autoimmun* 35 : 181-187, 2010.
- 7) Mells GF, Floyd JAB, Morley KI, et al. : Genome-wide association study identifies 12 new susceptibility loci for primary biliary cirrhosis. *Nat Genet* 43 : 329-332, 2011.
- 8) Nakamura M, Nishida N, Kawashima M, et al. : Genome-wide association study identifies TNFSF15 and POU2AF1 as susceptibility loci for primary biliary cirrhosis in Japanese. *Am J Hum Gen*, 91 : 721-728, 2012.
- 9) Ala A, Stanca CM, Bu-Ghanim M, et al. : Increased prevalence of primary biliary cirrhosis near superfund toxic waste sites. *Hepatology* 43 : 525-531, 2006.
- 10) Amano K, Leung PS, Rieger R, et al. : Chemical xenobiotics and mitochondrial autoantigens in primary biliary cirrhosis: identification of antibodies against a common environmental, cosmetic, and food additive, 2-octynoic acid. *J Immunol* 174 : 5874-5883, 2005.
- 11) Wakabayashi K, Yoshida K, Leung PS, et al. : Induction of autoimmune cholangitis in non-obese diabetic (NOD).1101 mice following a chemical xenobiotic immunization. *Clin Exp Immunol* 155 : 577-586, 2009.
- 12) Shimoda S, Nakamura M, Ishibashi H, et al. : HLA DRB4 0101-restricted immunodominant T cell autoepitope of pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis: evidence of molecular mimicry in human autoimmune diseases. *J Exp Med* 181 : 1835-1845, 1995.
- 13) Harada K, Tsuneyama K, Sudo Y, et al. : Molecular identification of bacterial 16S ribosomal RNA gene in liver tissue of primary biliary cirrhosis: is *Propionibacterium acnes* involved in granuloma formation? *Hepatology* 33 : 530-536, 2001.
- 14) Padgett KA, Selmi C, Kenny TP, et al. : Phylogenetic and immunological definition of four lipoylated proteins from *Novosphingobium aromaticivorans*, implications for primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 4 : 209-219, 2005.
- 15) Invernizzi P, Miozzo M, Battezzati PM, et al. : Frequency of monosomy X in women with primary biliary cirrhosis. *Lancet* 363 : 533-535, 2004.
- 16) Duarte-Rey C, Bogdanos D, Yang CY, et al. : Primary biliary cirrhosis and the nuclear pore complex. *Autoimmun Rev.*, 11 : 898-902, 2012.
- 17) Kawano A, Shimoda S, Kamihira T, et al. : Peripheral tolerance and the qualitative characteristics of autoreactive T cell clones in primary biliary cirrhosis. *J Immunol* 179 : 3315-3324, 2007.
- 18) Lleo A, Bowlus CL, Yang GX, et al. : Biliary apoptoses and anti-mitochondrial antibodies activate innate immune responses in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 52 : 987-998, 2010.

- 19) Lleo A, Selmi C, Invernizzi P, et al. : Apotopes and the biliary specificity of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 49 : 871-879, 2009.
- 20) Lleo A, Shimoda S, Ishibashi H, et al. : Primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis: apotopes and epitopes. *J Gastroenterol* 46 [Suppl 1]: 29-38, 2011.
- 21) Harada K, Nakanuma Y. : Innate immunity in the pathogenesis of cholangiopathy. A recent update. *Inflamm Allergy Drug Targets* Aug 23, 2012 [Epub ahead of print]
- 22) Berg PA. : The role of the innate immune recognition system in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis: a conceptual view. *Liver Int* : 31 : 920-931, 2011.
- 23) You Z, Wang Q, Bian Z, et al. : The immunopathology of liver granulomas in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 39 : 216-221, 2012.
- 24) Shimoda S, Harada K, Niuro H, et al. : Biliary epithelial cells and primary biliary cirrhosis: the role of liver-infiltrating mononuclear cells. *Hepatology* 47 : 958-965, 2008.
- 25) Nishimura M, Umehara H, Nakayama T, et al. : Dual functions of fractalkine/CX3C ligand 1 in trafficking of perforin+ / granzyme B+ cytotoxic effector lymphocytes that are defined by CX3CR1 expression. *J Immunol* 168 : 6173-6180, 2002.
- 26) Imai T, Hieshima K, Haskell C, et al. : Identification and molecular characterization of fractalkine receptor CX3CR1, which mediates both leukocyte migration and adhesion. *Cell* 91 : 521-530, 1997.
- 27) Shimoda S, Harada K, Niuro H, et al. : CX3CL1 (fractalkine): a signpost for biliary inflammation in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 51 : 567-575, 2010.
- 28) Shimoda S, Selmi C, Gershwin ME. : Fractalkine and other chemokines in primary biliary cirrhosis. *Int J Hepatol* 2012; Epub 2011 Aug 9.
- 29) Shimoda S, Harada K, Niuro H, et al. : Interaction between Toll-like receptors and natural killer cells in the destruction of bile ducts in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 53 : 1270-1281, 2011.

The role of natural killer (NK) and NK T cells in the loss of tolerance in murine primary biliary cirrhosis

S. Shimoda,* K. Tsuneyama,[†]
K. Kikuchi,[‡] K. Harada,[§]
Y. Nakanuma,[§] M. Nakamura,[§]
H. Ishibashi,[§] S. Hisamoto,* H. Niiro,*
P. S. C. Leung,** A. A. Ansari,^{††}
M. E. Gershwin** and K. Akashi*
*Medicine and Biosystemic Science, Kyushu
University Graduate School of Medical Sciences,
Fukuoka, Japan, [†]Department of Diagnostic
Pathology, Graduate School of Medicine and
Pharmaceutical Sciences, University of Toyama,
Toyama, Japan, [‡]Fourth Department of Internal
Medicine, Teikyo University School of Medicine,
Kanagawa, Japan, [§]Department of Human
Pathology, Kanazawa University Graduate School
of Medicine, Kanazawa, Japan, [¶]Clinical Research
Center, National Hospital Organization (NHO)
Nagasaki Medical Center, Kubara, Omura,
Nagasaki, Japan, **Division of Rheumatology,
Allergy and Clinical Immunology, School of
Medicine, University of California Davis, Davis,
CA, USA, and ^{††}Department of Pathology, Emory
University School of Medicine, Atlanta, GA, USA

Accepted for publication 14 February 2012

Correspondences: S. Shimoda, Department of
Medicine and Biosystemic Science, Graduate
School of Medical Science, Kyushu University,
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582,
Japan.

E-mail: sshimoda@intmed1.med.kyushu-u.ac.jp

Introduction

Primary biliary cirrhosis (PBC) is an autoimmune disease of the liver characterized by specific destruction of the small bile ducts and the presence of readily detectable levels of anti-mitochondrial antibodies (AMA) [1–3]. Recently, we reported that natural killer (NK) cells are involved in the destruction of cholangiocytes and NK T cells are partly responsible for the exacerbation of disease in PBC [4–6]. While these data are consistent with the view that innate immune effector mechanisms serve as a bridge to acquired immunity, and the data imply a major role for innate immune effector mechanisms in the initiation of pathogenesis of

Summary

One of the major obstacles in dissecting the mechanism of pathology in human primary biliary cirrhosis (PBC) has been the absence of animal models. Our laboratory has focused on a model in which mice, following immunization with a xenobiotic chemical mimic of the immunodominant autoepitope of the E2 component of pyruvate dehydrogenase complex (PDC-E2), develop autoimmune cholangitis. In particular, following immunization with 2-octynoic acid (a synthetic chemical mimic of lipoic acid-lysine located within the inner domain of PDC-E2) coupled to bovine serum albumin (BSA), several strains of mice develop typical anti-mitochondrial autoantibodies and portal inflammation. The role of innate immune effector cells, such as natural killer (NK) cells and that NK T cells, was studied in this model based on the hypothesis that early events during immunization play an important role in the breakdown of tolerance. We report herein that, following *in-vivo* depletion of NK and NK T cells, there is a marked suppression of anti-mitochondrial autoantibodies and cytokine production from autoreactive T cells. However, there was no change in the clinical pathology of portal inflammation compared to controls. These data support the hypothesis that there are probably multiple steps in the natural history of PBC, including a role of NK and NK T cells in initiating the breakdown of tolerance. However, the data suggest that adaptive autoimmune effector mechanisms are required for the progression of clinical disease.

Keywords: ELISA, ELISPOT, mouse model, natural killer cells, primary biliary cirrhosis

human PBC [7,8], the precise details of how such innate immune effector mechanisms influence the generation of pathogenic acquired immune responses remains poorly understood. To address this issue, we used a xenobiotic model of human PBC to examine the precise role of NK and NK T cells [9]. Results of the studies reported herein show that the *in-vivo* depletion of NK and NK T cells prior to immunization in this murine model of human PBC markedly delayed the generation of both anti-mitochondrial antibodies (AMA) and autoreactive T cell responses. Despite the reduction in the autoreactive T and B cell responses to mitochondrial autoantigens, the specific degree of portal inflammation was unchanged, emphasizing the lack of an absolute