

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究
分担研究報告書

新規発症急性自己免疫性肝炎の組織診断と長期経過

研究協力者 加藤 直也 千葉大学大学院医学研究院 消化器内科学 教授

研究要旨:組織学的に急性肝炎を呈する急性発症型自己免疫性肝炎(A-AIH)は重症化と関連する。今回、2001年にA-AIHのeligibility criteriaを独自に作成し、それに基づいて前向きにfollow-upしてきた単一市中病院の非重症例の長期経過を組織学的急性肝炎群と慢性肝炎群に分けて解析した。30症例中45%が組織学的急性肝炎、55%が慢性肝炎であり、平均観察期間は 8.1 ± 5.3 (2.1-16.2)年であった。ALT、IgGの推移、治療反応性、再燃は組織学的急性肝炎群と慢性肝炎群で差異を認めず、非重症A-AIHの長期予後は良好であった。慢性肝炎群の中には、新生線維が主体で、急速な線維化の進展をきたしたと考えられる症例も少なからず認められ、それらは病態として遷延した急性肝炎あるいは慢性肝炎への移行期と考えられた。A-AIHの病態を理解し、適切に診断・治療を行ない、重症化を抑制する上で、既存線維と新生線維の鑑別が重要と思われる。

共同研究者

藤原 慶一 千葉大学大学院
消化器内科学

安井 伸 千葉大学大学院
消化器内科学

横須賀 収 千葉大学大学院
消化器内科学名誉教授

A-AIHの組織像については、1995年にMayo Clinicから、「26例中25例で既存の線維化を伴う慢性肝炎」であり、急性肝炎の存在を否定する報告があつて以来、欧米ではそれがコンセンサスとなってきた[1]。

しかしながら、自験のA-AIHの組織像を検討すると、非重症例では半数が急性肝炎型であるのに対して、重症例では75%、劇症例では90%が急性肝炎型であり、組織学的には急性肝炎型がA-AIHの重症化と関連していると考えられる(図1)[2]。また、2000年以降、本邦を中心に組織学的急性肝炎を呈するAIHの報告がなされ、提言も行われた[3]。

A-AIHの診断基準が存在しなかったため、その長期経過、特に組織学的急性肝炎型の長期経過は明らかでない。今回、2001年に独自のA-AIHのeligibility criteriaを作成し、それに基づいて診断し前向きにfollow-upしてきた症例の長期経過を組織学的急性肝炎群と慢性肝炎

A. 研究目的

急性発症型自己免疫性肝炎(acute onset autoimmune hepatitis, A-AIH)には診断のためのgold standardが存在しない。成因不明の急性肝炎と判断されて適切な治療が行われず、亜急性の経過で重症化・劇症化した場合、免疫抑制療法にも抵抗性となり、予後不良である。

群に分けて解析した。

B. 研究方法

2001-2015年に単一市中病院にて診断し治療を導入した非重症(PT活性>40%, INR<1.5)の急性発症型自己免疫性肝炎(acute onset autoimmune hepatitis, A-AIH)で2年間以上経過観察できた30例を対象として、臨床病理学的な長期経過を検討した。「2年間以上」とはステロイドが維持量になってから1年以上観察したことを意味している。

非重症例を対象としたのは、通常肝生検が施行可能で、治療修飾を受けていない組織を検討するためである。また、診断、治療プロトコルのbiasを極力除外する目的で、単一者(KF)が診断し治療導入を行なえる単一施設での検討を行なった。

AIHの診断は、国際AIHグループの1999年のrevised original criteria、A-AIHに矛盾しない組織所見によって行なった。また、「Acute onset」については以下のeligibility criteriaを2001年に定義した。(1)新規に発症した肝障害、(2)慢性肝障害の既往がない、(3)HAV, HBV, HCV, HEV, EBV, HSV, CMVなどの活動性ウイルス性肝障害、薬剤性肝障害、中毒・代謝・アルコール・化学物質などによる肝障害が明らかでない、(4)理学所見、検査所見、さらに画像所見(US or CT)において慢性所見を認めない急性肝炎であること。

検討項目は以下の通りである。性、診断時年齢、発症・肝生検・治療開始の時期、ステロイドの種類・用量、診断時の肝組織、診断時のALT, T-Bil, ALP, PT, IgG, IgM, ANA, ASMA, LKM-1, AMA、経過中のALT, IgG, ANA、再燃、HCC発症。

肝組織はHE染色、膠原線維(Azan Mallory, Agなど)、弾性線維(Victoria blue)、肝再生状態(広義のductular reaction, CK-7)などの染色により、A-AIH診断のための所見として、interface hepatitis, lymphoplasmocytic infiltration, rosette formation, cobblestone appearance, centrilobular necrosis/collapse, emperipolesisなどを検討した[4]。

(倫理面への配慮)

本研究は、「ヘルシンキ宣言」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に従い、施設内倫理委員会による研究計画の承認が得られたものである。

C. 研究結果

(1) 治療開始時の臨床検査成績

治療開始時の全症例(n=30)の臨床検査成績を表1に、組織診断に基づくものを表2に示す。組織学的な慢性肝炎群(n=16)では、急性肝炎群(n=13)と比較して、年齢は若く(p=0.049)、PT活性は低く(p=0.019)、AIH scoreは高値であった(p=0.019, 0.0029)。性、ALT、ALP、T-Bil、ANA、IgG、IgM、発症から生検までの期間は両群間で有意差を認めなかった。しかしながら、昨年度に報告したn=46での治療開始時の検査成績では同一項目について両群間で有意差を認めなかったことから、今回の有意差はselection biasによるものと考えられる[5]。また、すべての症例で画像所見(US and/or CT)に慢性所見を認めなかった。

(2) 組織学的解析

30例中29例で組織学的検討が行われ、全例でA-AIHに矛盾しない所見であった。

13例(45%)が急性肝炎群に属し、4例でacute hepatitis、8例でacute severe hepatitis、1例でacute severe

hepatitis with massive necrosisであった。急性肝炎群の1例を図2に示す。Victoria blue-HE染色及びcytokeratin 7染色。小葉内にはcentrilobular necrosis/collapse、リンパ形質細胞浸潤がみられ、門脈域には既存の弾性線維のみがみられる。

一方、16例(55%)が慢性肝炎群に属し、1例でF1, mild、2例でF1, moderate、2例でF1, severe、1例でF2, moderate、7例でF2, severe、3例でF3, severeであった。慢性肝炎群の1例を図3に示す。小葉内にはcentrilobular necrosis、リンパ形質細胞浸潤がみられ、門脈域からのzonal necrosis領域にはリンパ形質細胞浸潤とともに細い網目状の新生線維、intermediate hepatocyteがみられる(F2, severe)。この症例の経過を図4に示す。33歳女性で11年間のBasedow病での通院歴があり肝機能は持続正常であった。肝障害発症約3か月後に紹介され上記組織像を呈していた(肝障害の経過中、甲状腺機能は正常)。加療により肝機能は急速に改善した。

(3) 治療前AIH score

Revised original scoreでは41%でdefinite diagnosis、38%でprobable diagnosis、21%でnon-diagnosticであった。Simplified scoreでは31%でdefinite diagnosis、21%でprobable diagnosis、48%でnon-diagnosticであった。

(4) 治療と初期治療反応性

28例でステロイドが投与され、2例では静注用グリチルリチンが投与された。全例で3か月以内に初期寛解を得られ、ウルソデオキシコール酸が追加投与された。

(5) 経過観察

平均観察期間は、 8.1 ± 5.3 (2.1-16.2)年であった。6例(20%)で再燃が認められ、うち2例は紹介前に認めていた。再燃回数は3回が1例、2回が2例、1回が3例であった。2回以上の3例にはアザチオプリンが追加投与され寛解した。組織学的急性肝炎群と慢性肝炎群では再燃に有

意差を認めなかった。

ステロイドは3例で中止され、それぞれ2、4、8年の観察期間中に再燃を認めなかった。その他の症例ではPSL 2.5-5mg/dayで維持投与されていたが、重大な副作用を認めなかった。

HCCの発症は全例で認めなかった。また最終観察時に全例が生存していた。

(6) ALTの推移

各ポイントでの平均ALT値は組織学的急性肝炎群と慢性肝炎群で有意差を認めなかった(図5)。

(7) IgGの推移

各ポイントでの平均IgG値は組織学的急性肝炎群と慢性肝炎群で有意差を認めなかった(図6)。再燃6例中4例でIgGは正常値を保っていたが、再燃中は前値よりやや上昇していた。

D. 考察

A-AIHの組織像は急性肝炎(acute newly formed AIH)と慢性肝炎(exacerbated pre-existent AIH)に分類されるが、今回慢性肝炎と診断した症例の中には線維径が細く網目状で全体に疎なものが多かった(prolonged acute AIH)。現状のDesmetの分類(Hepatology 1994)では線維化は伸展度にて評価されるため、上記のような組織は今回のように慢性肝炎と診断することになる。

肝の組織診断を行なうに際して、線維化の有無とその新旧の判定は重要である。一般に線維化はHE染色に何らかの線維染色を併用して判断されている。線維染色によって染色される線維は多くが膠原線維であり、それは門脈域のみでなくDisse腔にも存在し肝細胞のframeworkを形成しているため、小葉内に膠原線維の沈着を認めた場合、それがframeworkを形成する既存の膠原線維が凝集したもの

か、あるいは真の新生膠原線維なのか区別し難いことがある[6]。

一方、弾性線維は正常肝では門脈域と中心静脈や小葉下静脈周囲にのみに限局しており、膠原線維の新生に伴って局所に産生されることから、新たな線維化の指標になると思われる。弾性線維はオルセイン、Victoria blueで染色可能で、光顕的に既存の弾性線維は直径1~2 μ 、太いコヨリ状線維であり、新生された弾性線維は0.2~0.7 μ の細い線維で網目状走行が目立つ[6]。

堀内らは、急性肝炎や劇症肝炎など肝障害の発症時期がはっきりしている症例の生検例や剖検例を検討し、肝病変発症後に新生弾性線維の出現に要する期間は、壊死の著しい症例では約1ヵ月であり、壊死のあまり著しくない症例では約5~6ヵ月であることを報告している。さらに新生弾性線維の出現とその増量及び線維径の増大は、肝炎の慢性化及びその進展をよく反映し、弾性線維はcollapseと線維化の鑑別、及び既存の線維と新生線維を鑑別するうえで極めてよい指標となることを報告している[6]。

こうした報告に基づき、今回弾性線維を染色してA-AIHにおける線維の新旧を検討した結果、慢性肝炎と診断した症例の中には線維が細く網目状で全体に疎なもの、つまり新生線維が多く、慢性肝炎というより遷延した急性肝炎と判断する方が適切なものを多く認めた。今回、自己免疫性肝炎分科会で報告するにあたり、昨年の研究報告書に目を通すと、原田教授の報告に、「発症から肝生検施行時までの時間の経過とともに門脈域および小葉中心部の線維化が進展することが明らかとなり、線維化を指標とした急性

発症と急性増悪との鑑別には注意を要することが示唆された」[7]とあり、多施設の検討でも同様の傾向を認めていることがわかった。

同一施設でのA-AIH症例の組織像の経年的推移をみると、近年は急性肝炎型が多くを占めていることがわかる(図7)。迅速に除外診断を行ない、A-AIHの臨床的特徴を鑑みて[5]、早期に肝生検を施行できるようになったことがその要因と考えられる。

前述のように組織学的には急性肝炎型がA-AIHの重症化と関連していると考えられる。つまり、組織学的急性肝炎(acute newly formed AIH)と新生線維が主体の慢性肝炎(prolonged acute AIH)は本来同一の病態として認識し診断、治療に当たることが重症化の抑制、予後の改善に重要であると考えられる(図8)。また、組織学的慢性肝炎の中で、exacerbated pre-existent AIHとprolonged acute AIHを区別することはA-AIHの病態の本質を理解する上でも必要不可欠と思われる。

新生線維を客観的に評価するために定性、定量的解析をすることが有用であるが、現実には適切な標本・適切な染色法の選択、新生線維の定義などその前に解決すべき課題が多い。

また、これまで自験のA-AIH症例のeligibility criteriaには画像所見を明記してきた。これは劇症肝炎、急性肝不全の診療において、acuteかacute on chronicかを判断することは予後予測に重要であったからである。入院時(転院時)に十分な情報を得られないことも多く、画像検査、特に肝炎と肝組織像に関する経験の蓄積があるhepatologistによ

る超音波検査は、それを判断する上で有用である。また、肝組織診断は限られた組織に基づくものであり、AIHのような組織学的heterogeneityを特徴とする疾患では一つの組織像が肝全体の組織像を代表するものであるのか、判断が困難である。それを補うためにも肝全体を評価する画像診断や画像的な差異に基づく複数箇所組織検査が有用と考え、実践してきた[8]。

しかし、他のpublicationsで画像所見についての記載をみることはほとんどない。「臨床的な急性肝炎」の中に画像所見が含まれているものと推測しているが多施設研究などでは確認が取れないこともあろう。exacerbated pre-existent AIHを極力除外し、真のA-AIHを論じる意味で画像所見を十分に活用することは有用であると考え。

E. 結論

非重症 A-AIH における治療反応性及び長期予後は通常の AIH と同様良好で、組織学的急性肝炎群と慢性肝炎群で差異を認めなかった。急速な線維化の進展をきたす症例も少なからず認められ、既存線維と新生線維の鑑別が病態の理解に不可欠である。

F. 参考文献

- 1) Burgart LJ, Batts KP, Ludwig J, Nikias GA, Czaja AJ. Recent-onset autoimmune hepatitis. Biopsy findings and clinical correlations. *Am J Surg Pathol* 19; 699-708, 1995.
- 2) Fujiwara K, Yasui S, Tawada A, Fukuda Y, Nakano M, Yokosuka O. Diagnostic value and utility of

the simplified International Autoimmune Hepatitis Group criteria in acute onset autoimmune hepatitis. *Liver Int* 31; 1013-1020, 2011.

- 3) Onji M, Autoimmune Hepatitis Study Group. Proposal of autoimmune hepatitis presenting with acute hepatitis, severe hepatitis and acute liver failure. *Hepatol Res* 41; 497, 2011.
- 4) Fujiwara K, Fukuda Y, Seza K, Saito M, Yasui S, Nakano M, Yokosuka O, Kato N. Long-term observation of acute onset autoimmune hepatitis presenting clinically and radiologically as acute hepatitis. *Hepatol Int* 2018 Feb 15. doi: 10.1007/s12072-018-9848-z. [Epub ahead of print]
- 5) Fujiwara K, Fukuda Y, Seza K, Saito M, Yasui S, Nakano M, Yokosuka O. High level of persistent liver injury is one of clinical characteristics in treatment-naïve acute onset autoimmune hepatitis: experience in a community hospital. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 23; 174-180, 2016.
- 6) 堀内隆三, 内田俊和, 柄沢勉, 志方俊夫. 弾性線維の肝組織診断における意義. *肝臓* 26; 1315-1323, 1985.
- 7) 原田憲一. 急性肝炎期自己免疫性肝炎の病理所見. 難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究 平成28年度分担研究報告書 pp36-40.

- 8) Fujiwara K, Yasui S, Yokosuka O. Autoimmune acute liver failure: The emerging etiology for acute liver failure (review). *Hepatol Int* 7; 335-346, 2013.

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fujiwara K, Fukuda Y, Seza K, Saito M, Yasui S, Nakano M, Yokosuka O, Kato N. Long-term observation of acute onset autoimmune hepatitis presenting clinically and radiologically as acute hepatitis. *Hepatol Int* 2018 Feb 15. doi:10.1007/s12072-018-9848-z. [Epub ahead of print]
- 2) Fujiwara K, Yasui S, Haga Y, Nakamura M, Yonemitsu Y, Arai M, Kanda T, Oda S, Yokosuka O, Kato N. Early combination therapy with corticosteroid and nucleoside analogue induces rapid cessation of inflammation in acute liver failure due to transient infection of hepatitis B virus. *Intern Med* 2018 Jan 11. doi: 10.2169/internalmedicine.9670-17. [Epub ahead of print]
- 3) Fujiwara K, Hida S, Yasui S, Yokosuka O, Oda S. Corticosteroid might reduce serum levels of pro-inflammatory cytokines in fulminant hepatitis: a case series. *Hepatol Res* 48; 106-112,

2018.

- 4) Fujiwara K, Yasui S, Yokosuka O, Oda S, Kato N. Diagnostic utility of radiological heterogeneity in acute severe (fulminant) autoimmune hepatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 24; 485-491, 2017.
- 5) Nguyen Canh H, Harada K, Ouchi H, Sato Y, Tsuneyama K, Kage M, Nakano M, Yoshizawa K, Takahashi A, Abe M, Kang JH, Koike K, Inui A, Fujisawa T, Takaki A, Arinaga-Hino T, Torimura T, Suzuki Y, Fujiwara K, Zeniya M, Ohira, Tanaka A, Takikawa H; Intractable Liver and Biliary Diseases Study Group of Japan. Acute presentation of autoimmune hepatitis: a multicentre study with detailed histological evaluation in a large cohort of patients. *J Clin Pathol* 70; 961-969, 2017.

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

表 1

| Clinical, biochemical and immunological features of patients at the start of treatment | |
|--|-------------|
| n | 30 |
| Sex (Male/Female) | 9/21 |
| Age (years) | 55.1 ± 13.1 |
| PT (%) | 91 ± 15 |
| ALT (U/l) | 825 ± 486 |
| ALP (U/l) | 504 ± 167 |
| T-BIL (mg/dl) | 4.2 ± 4.2 |
| ANA | |
| < x 40 | 5 |
| x 40 | 4 |
| x 80 | 5 |
| > x 80 | 16 |
| IgG (mg/dl) | 2146 ± 720 |
| IgM (mg/dl) | 203 ± 146 |
| Revised original score before treatment | 13.9 ± 4.0 |
| Simplified score before treatment | 5.4 ± 1.5 |
| Duration from onset to liver biopsy (days) | 51.1 ± 45.0 |

(Fujiwara et al. Hepatol Int 2018 in press)

表 2

| Comparison of findings of patients between histologically acute and chronic hepatitis at the start of treatment | | | |
|---|--------------------------------|----------------------------------|--------|
| | Histologically acute hepatitis | Histologically chronic hepatitis | p |
| n | 13 (45%) | 16 (55%) | |
| Sex (Male/Female) | 4/9 | 4/12 | 0.53 |
| Age (years) | 59.6 ± 13.1 | 50.3 ± 10.6 | 0.049 |
| PT (%) | 98 ± 14 | 85 ± 13 | 0.019 |
| ALT (U/l) | 992 ± 561 | 690 ± 402 | 0.10 |
| ALP (U/l) | 542 ± 166 | 471 ± 171 | 0.27 |
| T-BIL (mg/dl) | 5.2 ± 5.1 | 3.0 ± 3.0 | 0.16 |
| ANA | | | 0.70 |
| < x 40 | 3 | 2 | |
| x 40 | 2 | 2 | |
| x 80 | 3 | 2 | |
| > x 80 | 5 | 10 | |
| IgG (mg/dl) | 1931 ± 485 | 2322 ± 871 | 0.16 |
| IgM (mg/dl) | 193 ± 191 | 217 ± 102 | 0.69 |
| Revised original score (pre Tx) | 12.1 ± 4.5 | 15.6 ± 3.4 | 0.019 |
| Simplified score (pre Tx) | 4.5 ± 1.5 | 6.1 ± 1.2 | 0.0029 |
| Days from onset to liver biopsy | 37.2 ± 27.7 | 62.3 ± 53.5 | 0.14 |

(Fujiwara et al. Hepatol Int 2018 in press)

Figure 1

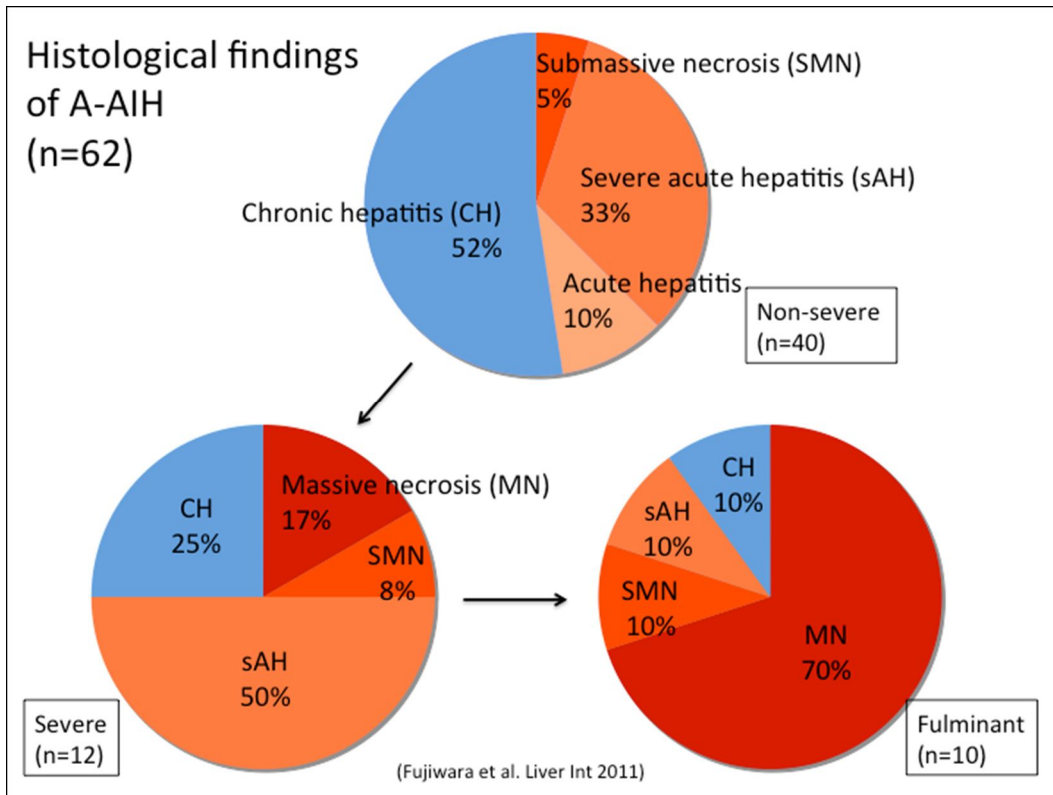
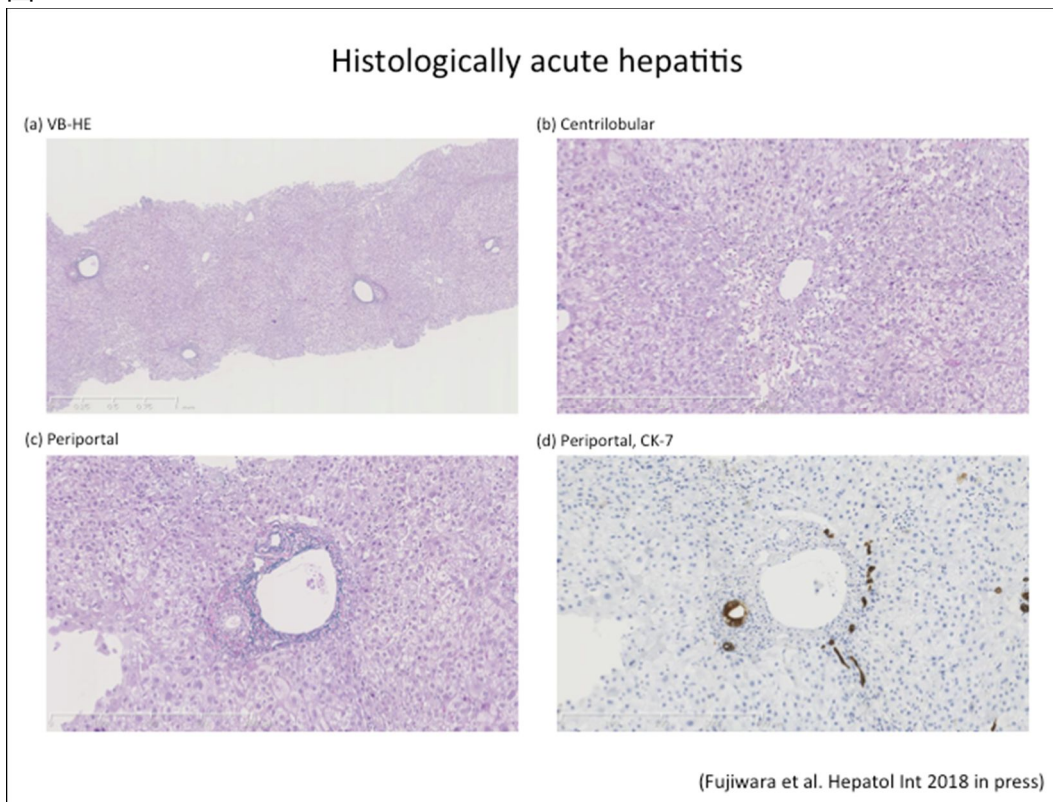
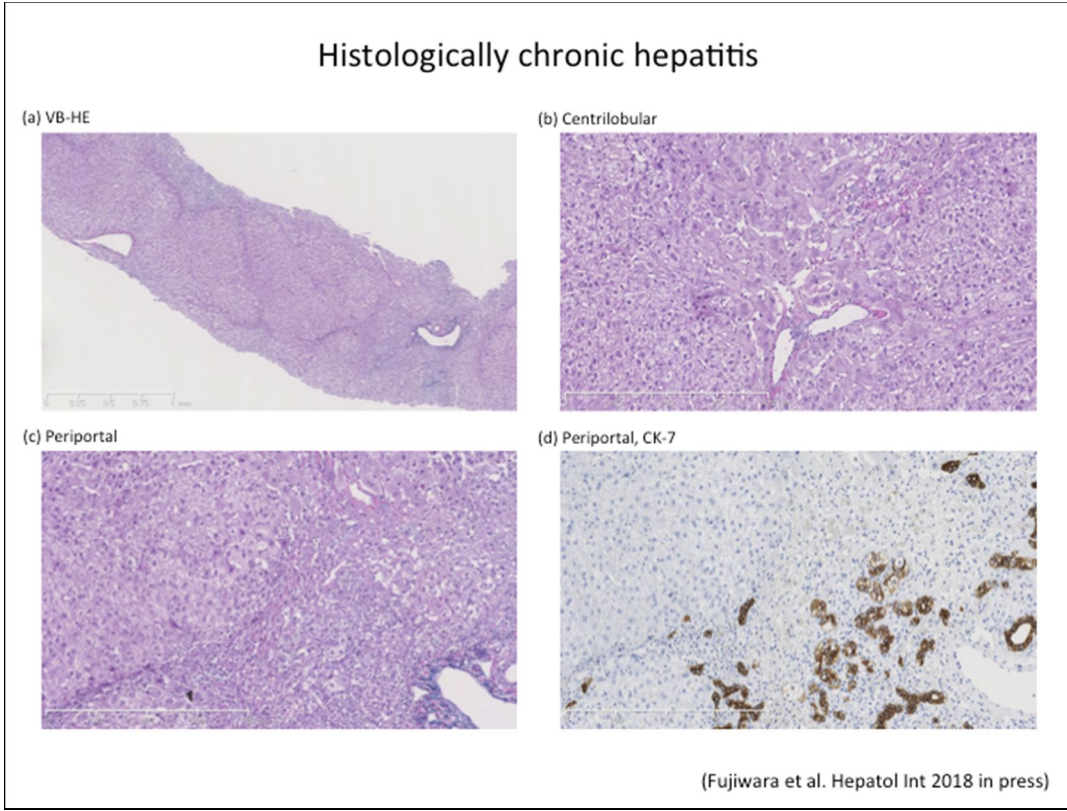


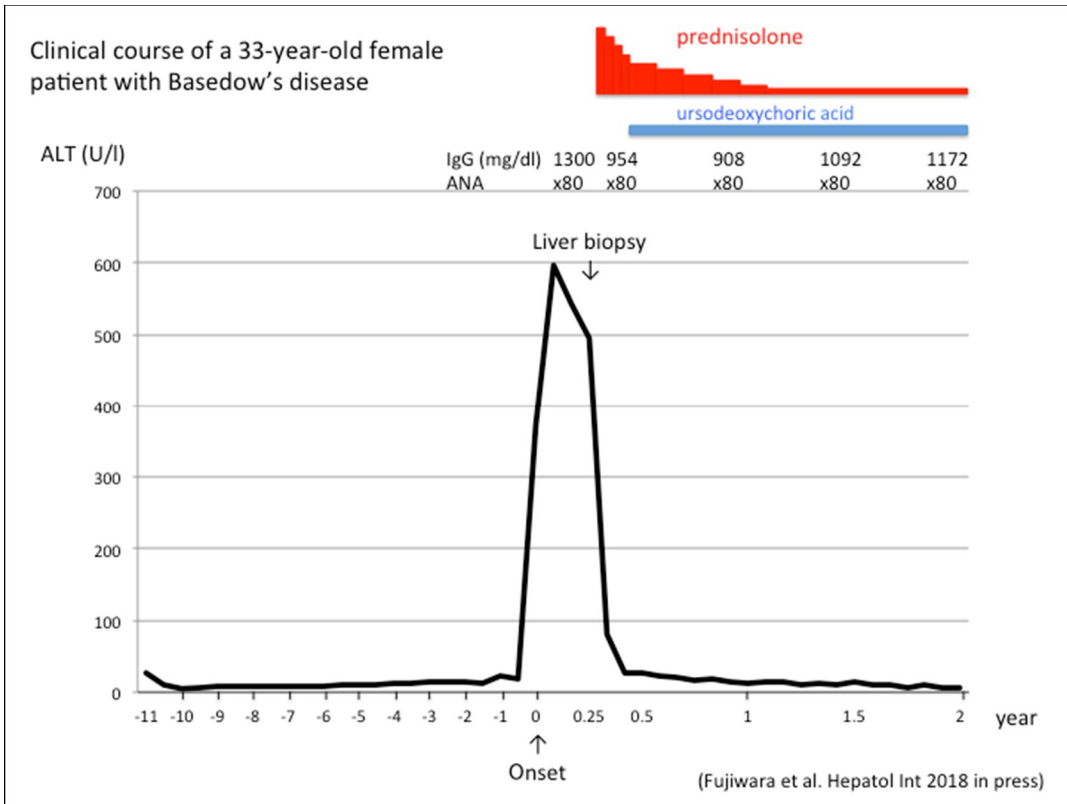
Figure 2



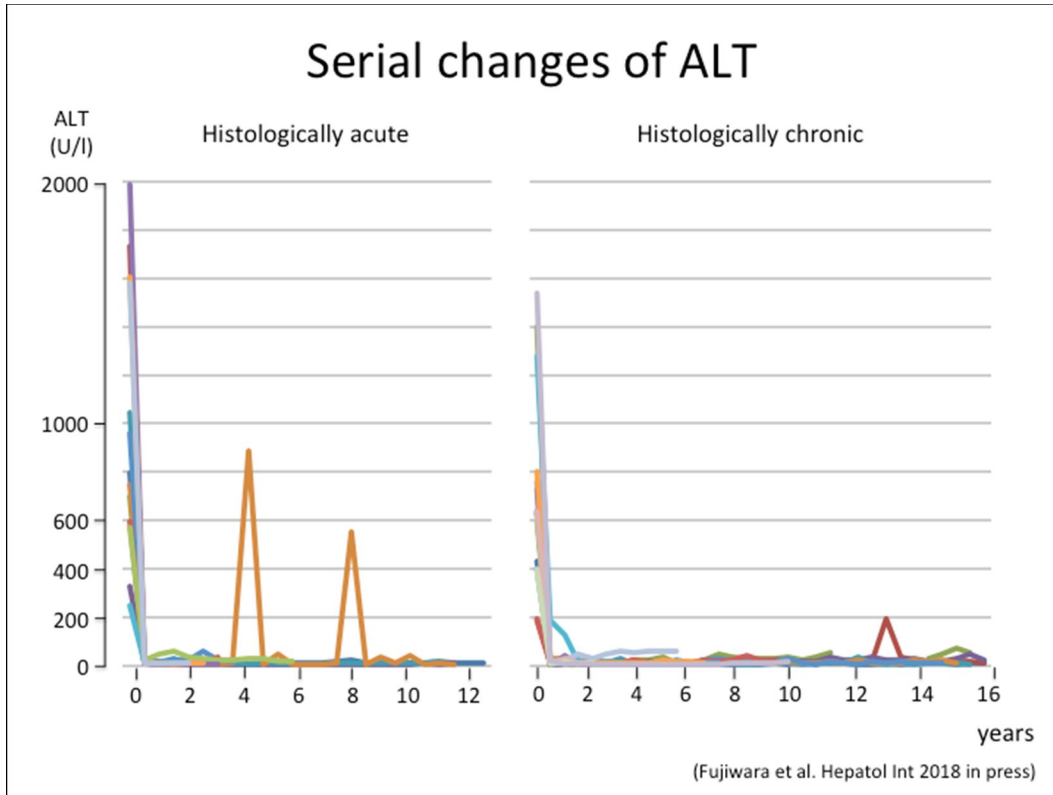
☒ 3



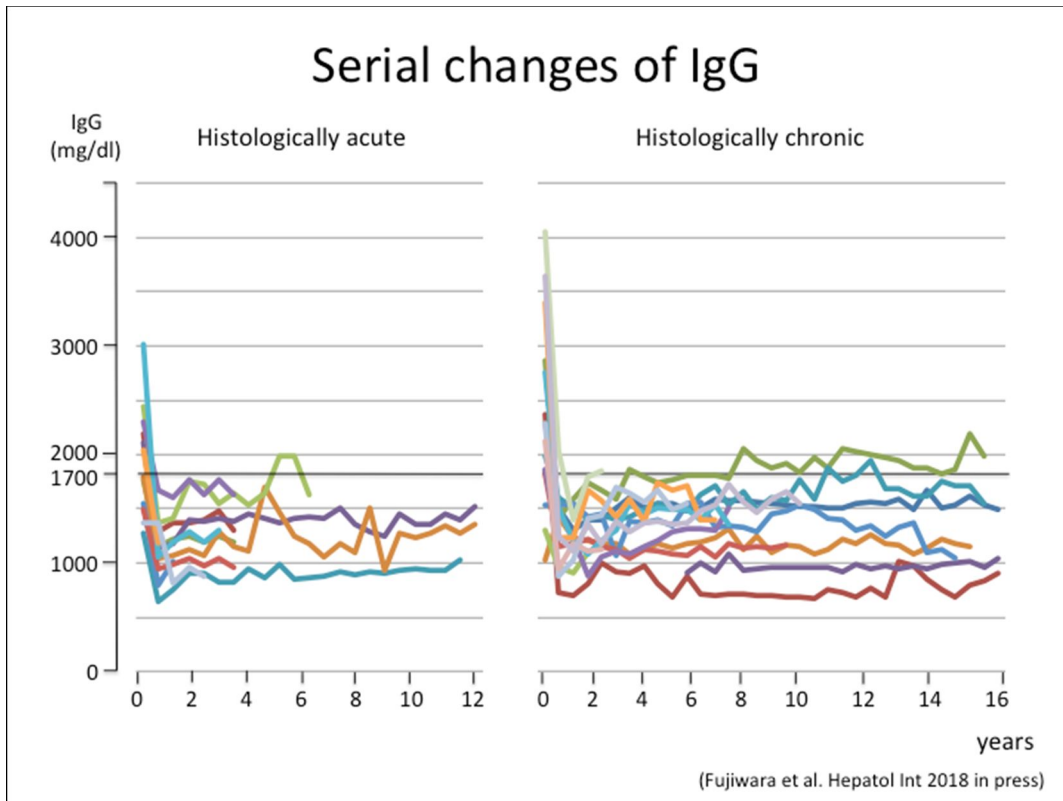
☒ 4



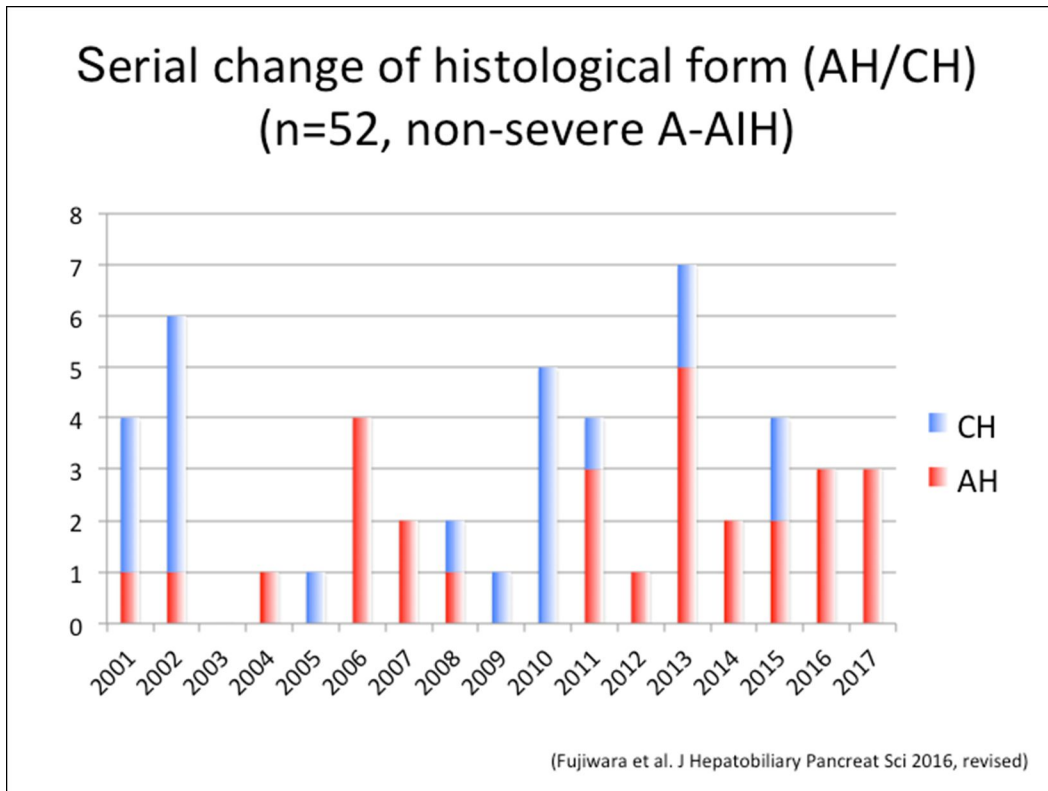
☒ 5



☒ 6



☒ 7



☒ 8

Histology of “clinically and radiologically ” acute onset AIH

1. **Histologically acute AIH**
(acute newly formed AIH)
2. Histologically chronic AIH
 - 1) CH with acute exacerbation (coarse fibrosis)
 - 2) **Prolonged AH (delicate fibrosis)**

Some patients may exhibit histological features of transition to chronicity.
(Onji. Hepatol Res 2011)