

【第 120 回成医会総会宿題報告】

自己免疫性肝疾患の臨床

——自己免疫性肝炎を中心に——

銭 谷 幹 男

東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科

CLINICAL STUDY OF AUTOIMMUNE LIVER DISEASES, WITH A FOCUS ON AUTOIMMUNE HEPATITIS

Mikio ZENIYA

*Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine,
The Jikei University School of Medicine*

Autoimmune hepatitis (AIH), primary biliary cirrhosis, and primary biliary cirrhosis are autoimmune liver diseases whose causes are unknown but are closely related to the autoimmune system. Studies of immune mechanisms, especially of those in AIH, show that HLA DR4 is an important genetic factor in Japanese patients. Decreased expression of the cytotoxic T cell V α 24J α Q gene in liver tissue might play important roles in breaking self-tolerance and inducing autoimmune reactions to the liver. Helper T type 1 cytokines, especially interferon- γ , are dominant cytokines in the onset of the disease, whereas helper T type 2 cytokines, especially interleukin-10, become dominant after immunosuppressive treatment. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) might be the principal immune mechanism for destroying liver cells. In the sera of patients with AIH, antibodies to the hepatocyte membrane were found with an assay using isolated rat hepatocytes. However, in peripheral blood the number of K-cells, which are effector cells for ADCC, was lower than in healthy controls. This finding can be explained by the presence of Fc-receptor blockade. Recently, a new animal model of AIH using the fusion cells produced by polyethylenglycol was developed in the Division of Gastroenterology and Hepatology. In this model liver-specific inflammation was induced by the subcutaneous sensitization of fusion cells created from bone marrow cells and an established well-differentiated hepatoma cell line. This model will be used to analyze immunologic mechanisms of AIH.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2004 ; 119 : 229-41)

Key words : autoimmune hepatitis, immune-mediated cytotoxicity, antibody dependent cell-mediated cytotoxicity

I. はじめに

自己免疫性肝疾患はその病態の発症・進展に自己免疫機序が深く関与することが推定されている原因不明の慢性、進行性の肝疾患である。臨床病態により、自己免疫性肝炎(autoimmune hepatitis; AIH)、原発性胆汁性肝硬変(primary biliary

cirrhosis; PBC)、原発性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis; PSC)およびそのoverlap型や非定型の存在が報告されている。免疫学的に、AIHでは肝細胞、PBCは小葉間胆管、PSCでは肝内外胆管がそれぞれ標的細胞となっていることが示唆されている。わが国の慢性肝疾患の80%以上は肝炎ウイルス由来であるが、肝炎ウイルス自体

は肝障害性がないことより、その慢性化機序は感染宿主との免疫応答に基づくことが指摘されている。したがって自己免疫性肝疾患病態の検討は肝疾患の病態解析上有用な多くの情報をもたらすことが期待されている。本稿では筆者の検討を中心に自己免疫性肝疾患の中でもとくに自己免疫性肝炎について概説する。

II. 自己免疫性肝炎の疫学¹⁾²⁾

平成8年の厚生省特定疾患研究、疫学研究班での検討から、わが国における症例数は1995年の登録症例から推定すると6,000~7,500名であり、男女比は1:6と女性優位で、平均年齢は54歳とされている。この数はわが国の慢性肝疾患の1.6~2.0%、慢性肝炎・肝硬変の1.2~1.5%を占めることを意味している。

多くの自己免疫性疾患と同様に女性に多く、好発年齢は中年以降である。興味深いことに、欧米では思春期と中年2つの好発年齢と異なった年齢分布を示す (Fig. 1)。

III. 免疫遺伝学的背景

1. 遺伝背景と AIH³⁾⁻⁵⁾

Table 1 に自験症例における HLA のフェノタイプ、ハプロタイプを示す。筆者らの検討からも明らかのように、わが国 AIH の疾患感受性 HLA は HLA-DR4 であり、しかも限定されたハプロタ

イプでは臨床症候がより顕著であることが明らかとなっている。しかし、HLA-DR4 陽性者はわが国では正常人でも 40% を超えており、AIH の疾患感受性遺伝子は DR4 と連鎖不均衡にある未知の遺伝子にあると考えられる。欧米症例ではわが国と異なり、第一の疾患感受性 HLA は DR3 であり、この相違が年齢分布や臨床病型、治療反応性に関わることが示唆される。事実 Table 2 に示すように HLA 背景の違いにより、臨床検査成績では大きな差異は認められないものの、副腎皮質ステロイド (corticosteroid: CS) の治療反応性には差異が認められることが比較研究から明らかとなっている。すなわち、わが国の症例は CS に対する反応が良好でしかも再燃・増悪も少ないという事実である。実際わが国では CS の治療抵抗症例は少なく、むしろ治療開始の遅れや、CS の自己休薬など不用意な治療中断が临床上の問題となっている。

わが国での検討を含めて⁶⁾⁻⁹⁾、疾患感受性のある MHC に認識されるアミノ酸の特異性が報告されている。DR β の 13 番目に付く Histidine または他の塩基性アミノ酸、67-72 番目の LLEQKR などである。筆者らの検討では特異的 HLA-DR4 genotype は見出されていない。

2. 非 HLA 遺伝子との関連

疾患に関与する遺伝子として非 HLA 遺伝子についての検討も行われている。欧米では、活性化

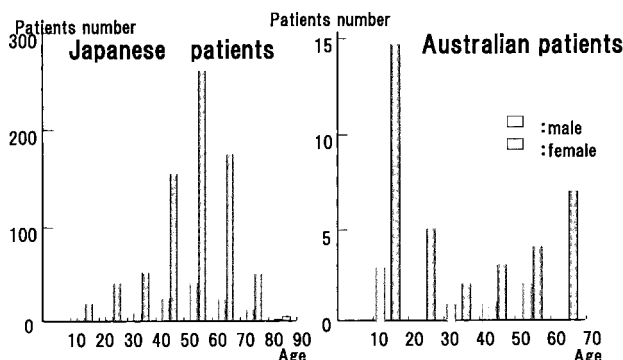


Fig. 1. Age distribution of autoimmune hepatitis patients in two different countries (Japan and Australia). In Japan single peak at age 50's was clearly observed, whereas in Australia two different ages (10's and 70's) were shown. In Japanese statistics, 855 patients were collected and average age is 52.4 years old and female gender dominants (male vs female: 111: 744), Most of Japanese patients showed positive HLA-DR4 and in Australia HLA-DR3 is predominant.

Table 1. HLA phenotype and haprotype of 22 Japanese autoimmune hepatitis patients. HLA-DR4 is the dominant HLA phenotype in Japanese autoimmune patients.

| | control (n=60) | AIH (n=22) | χ^2 | χ^2 (C) | Corrected <i>p</i> -value |
|-----------------|-------------------|---------------|----------|--------------|------------------------------|
| A24 | 58.3 | 68.2 | 0.656 | 0.308 | NS |
| B52 | 21.7 | 22.7 | 0.011 | 0.039 | NS |
| B54 | 16.7 | 22.7 | 0.396 | 0.094 | NS |
| DR2 | 31.7 | 31.8 | 0.0001 | 0.005 | NS |
| DR4 | 40.0 | 90.9 | 16.778 | 14.793 | <i>p</i> < 0.01 |
| DQ4 | 15.0 | 59.1 | 15.940 | 13.774 | <i>p</i> < 0.01 |
| A24-B52 | 21.7 | 22.7 | 0.011 | 0.039 | NS |
| B52-DR4 | 5.0 | 18.2 | 3.582 | 2.093 | NS |
| DR4-DQ4 | 13.3 | 59.1 | 17.692 | 15.371 | <i>p</i> < 0.01 |
| B52-DR4-DQ4 | 1.7 | 18.2 | 7.668 | 5.055 | <i>p</i> < 0.05 |
| A24-B52-DR4-DQ4 | 1.7 | 18.2 | 7.668 | 5.055 | <i>p</i> < 0.05 |

(%) χ^2 (C) : corrected χ^2

Table 2a. Clinical features of Japanese autoimmune hepatitis patients in different HLA background. Note HLA-DQ4 has disequilibrium to HLA-DR4. When the patients were positive for HLA-DR4-DQ4 or HLA-A24-B52-DR4-DQ4, the disease showed more severe condition.

| HLA | <i>n</i> | Age (y) | Max. ALT (IU/ml) |
|-----------------|----------|------------|---------------------|
| DQ4 | | | |
| (+) | 13 | 45.0 ± 3.1 | 500.8 ± 143.2 |
| (-) | 7 | 51.1 ± 3.7 | 386.9 ± 132.6 |
| A24-B52-DR4-DQ4 | | | |
| (+) | 4 | 52.5 ± 4.9 | 932.8 ± 325.0 |
| (-) | 16 | 45.8 ± 2.7 | 376.4 ± 78.0 |

Table 2b. HLA is also correlates to therapeutical response.

| HLA | <i>n</i> | CR (<i>n</i> =18) | Recurrece after CR (<i>n</i> =6) |
|-----------------|----------|--------------------|--------------------------------------|
| DQ4 | | | |
| (+) | 13 | 11 | 4 |
| (-) | 7 | 7 | 2 |
| A24-B52-DR4-DQ4 | | | |
| (+) | 4 | 4 | 4 |
| (-) | 16 | 14 | 2* |

**p* < 0.05

した T 細胞表面に表出され、抗原提示細胞の B7 と結合する Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4, CD152), TNF- α , IL-1 β , IL-10 などの SNP が検討され、CTLA-4*G アリル, TN-

FRSF6 が AIH の病態と関連することが指摘されている¹⁰⁾¹¹⁾。CTLA-4 に関する著者らの検討では健常対象と比較して 17 番目の GG 変異が多く、AG 変異は少なく欧米の AG 変異が多く、AA 変

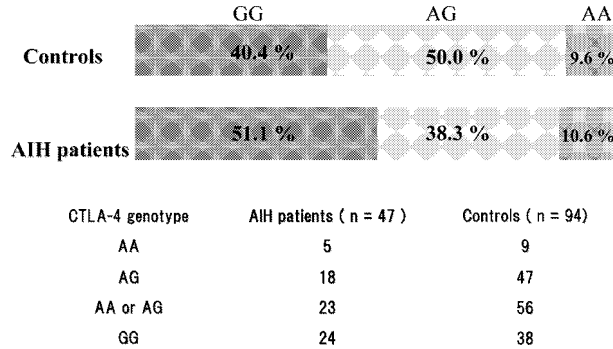


Fig. 2. CTLA-4 genotype distributions in AIH vs controls

異が少ない事実とは異なることが明らかになっている (Fig. 2; 投稿中)。興味あることに、AG 変異を有すわが国症例では他の変異群に比較し、診断時の血清トランスアミナーゼは高値を示す傾向が認められた。欧米ではわが国症例に比し、治療抵抗性を示す症例が多い事実と、この相違は関連がある可能性があり、今後こうした検討を詳細に検討することが病態解明と新たな治療法確立に有用

であると思われる。なお、IFN- γ , TGF- β , IL-12 の SNPs に関する著者らの検討では現在検討中の症例数では有意の差異は認められていない (Fig. 3, Table 3)。

3. サイトカイン動態と AIH の臨床経過

サイトカインと AIH の関連については多くの検討がなされている。血清 IL-2 と IL-4 は AIH で低値を示すことが報告されている¹²⁾。しかし、サ

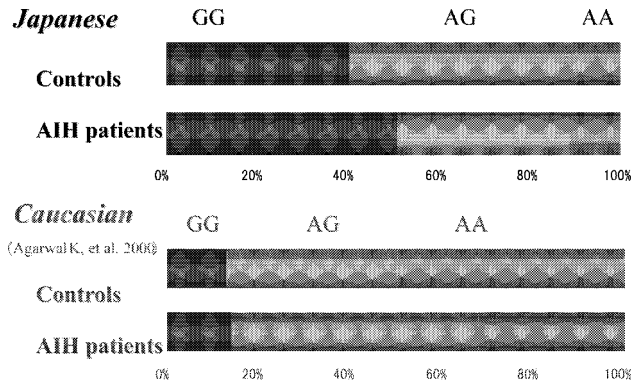


Fig. 3. CTLA-4 genotype comparison between Japanese and Caucasian

Table 3. TGF β and IL2 genotypes in Japanese AIH patients

| | genotypes | Frequency (No (%)) | |
|---------------|-----------|--------------------|-----------------|
| | | AIH | Normal subjects |
| TGF β | CC | 10 (22) | 32 (34) |
| | CT | 22 (48) | 36 (38) |
| | TT | 14 (30) | 26 (28) |
| IL-12 β | AA | 14 (29) | 25 (27) |
| | AC | 18 (38) | 46 (50) |
| | CC | 16 (25) | 21 (23) |

イトカインの検討に関する検討は、サイトカイン測定法、測定時期、肝臓内と血清の関連等についての問題を解決することが必要である。現状の測定系では必ずしも目的とするサイトカインが病態と一致して同定できるとは限らず、また、測定が容易な血液サンプルでの成績が果たして肝臓特異的に生じていると考えられている AIH の免疫状態を反映するかという問題も未解決である。これら検討上の制約を勘案して著者らは生体内の状態を比較的良好に反映すると考えられている全血培養法を用いて、とくに CS 治療前後の経過を観察することにより、有意のサイトカイン動態の変化が認められることを見いだしている（未発表データ）。一部の成績を Fig. 4 に示す。Fig. 4 で明らかのように、CS 治療開始により明らかなサイトカインの変動が認められる。この成績は CS の使用に変えて将来的には異常なサイトカイン動態を制御することにより AIH の治療が可能である可能性を示している。CS 治療のわが国における臨床的問題点としては、美容的な問題も大きい。症例の多くが女性である点を勘案すると、CS 投与、とくに長期投与で生じる美容的問題は小さくない。この歓迎されない副作用を回避する意味においても、サイトカインを中心とした今後の更なる詳細

な検討とその成果の臨床応用が期待される。

4. 免疫寛容破綻に関する検討¹³⁾

AIH の発症には自己肝細胞に対する免疫応答の成立が不可欠である。しかし、自己細胞に対する免疫反応は通常寛容状態にあり、自己免疫応答は惹起されない仕組みが存在する。肝臓に多く含まれる NKT 細胞はこの寛容を調節している免疫担当細胞集団である。他の自己免疫疾患ではすでにこの NKT 細胞の失調が病態発症と関連することが示されている。

興味あることに、この NKT 細胞は T 細胞受容体として特定の $V\alpha 24J\alpha Q$ のみを使用するという特徴を有していることから、この発現を検討することにより機能判定が可能である。

診断の確定した AIH の肝生検材料より DNA を抽出、 $V\alpha 24J\alpha Q$ 遺伝子の解析をした成績を Fig. 5 に示す。図で明らかのように、AIH 症例ではこの遺伝子が検出されない場合が存在し、検出されない症例の臨床的活動性は明らかに顕著であり、NKT 細胞を介した免疫寛容調節機構が AIH の発症進展に関与する可能性が示唆された。なお、同様の検討を行った C 型慢性肝炎症例では $V\alpha 24J\alpha Q$ 遺伝子は全例で検出された。

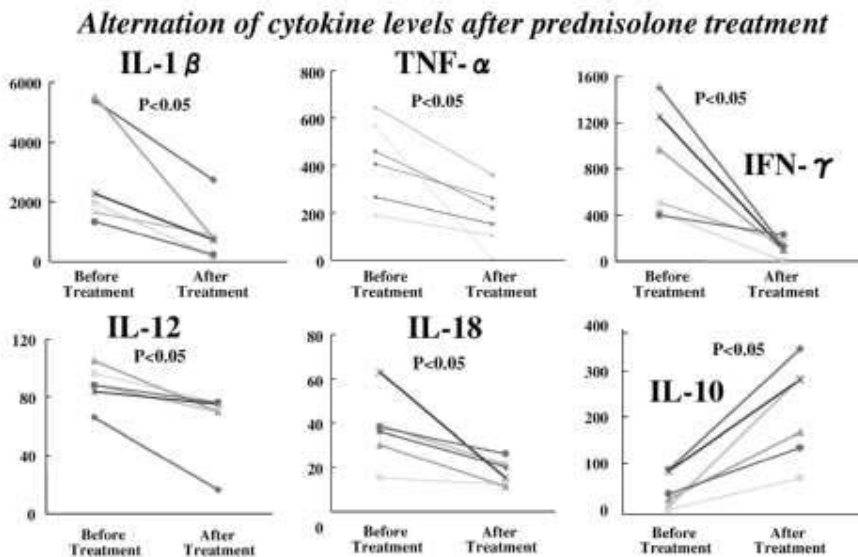


Fig. 4. The change of cytokine profiles after starting of corticosteroid treatment in autoimmune hepatitis patients studied by whole blood culture method. The level of cytokines was measured by ELISA using culture supernatant.

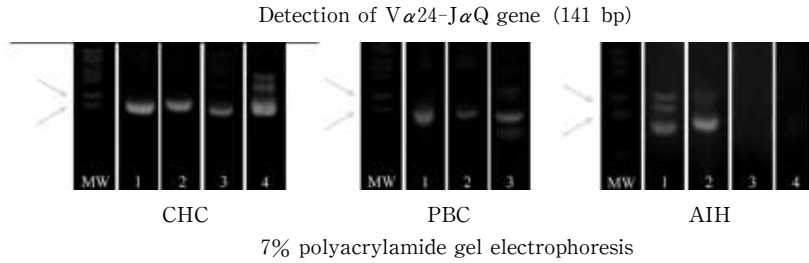


Fig. 5.

5. 肝臓内浸潤 T 細胞受容体の検討¹⁴⁾

免疫寛容の破綻が生じ、自己免疫機序により肝細胞障害が発現する場合、その効果細胞の第一は細胞障害性 T 細胞 (cytotoxic T cell; CTL) である。この CTL は自己抗原を認識し、細胞障害性を発現するためには、HLA 内表出された自己抗原ペプチドを CTL 受容体で認識する過程が必要である。この CTL 受容体遺伝子は多種に及ぶ抗原ペプチドを認識するため、可変領域をコードした遺伝子群で構成されており、ヒトにおいては 24 種の遺伝子がすべて明らかにされている。AIH の肝細胞内で実際に肝細胞障害に関わっている CTL 受容体を同定できれば、対応抗原解析にも有力な情報を与えるとともに、臨床的に肝障害を惹起する CTL を免疫学的に調節することによる治療戦略にも有用である。そこで AIH の肝生検材料から抽出した DNA 検体を用いて TCR 受容体遺伝子をその可変領域に当たる V β 遺伝子に焦点を当て解析した。解析に当たっては、PCR 法による増殖高率から判定量的により強く発現している V β 遺伝子を検出、さらに肝生検標本採取と同時期に得られた末梢血リンパ球を用いた同様の検討

結果と比較検討、末梢血での表出に比し 1.5 倍以上肝臓内で表出が増加している場合を肝臓で有意に使用されている CTL 受容体とした。

解析結果を Fig. 6, 7 に示す。この検討では AIH に特異的に使用される TCR 受容体は認められなかった。しかし、症例を臨床的、組織学的活動性の高い群とそれ以外に分類すると、両者間で発現頻度の高い TCR 受容体には差異がみられ、この傾向は同一症例の治療前後での検討でも確認された。さらに、HLA のハプロタイプが共通している症例に限定すると V β 7 の使用が特徴的で、さらにそのシーケンス解析では Table 4 に示すように共通したシーケンスが認められた。この事実は、AIH での自己免疫応答に関与する TCR は HLA 背景が同一の場合同じ抗原ペプチドを認識する可能性を示している。しかし、この当初発現する TCR 受容体は持続せず治療あるいは経過により変化する可能性も同時に明らかになった¹⁵⁾。この事実はすでに epitope spreading として知られている事実であり、著者らの成績は AIH においても epitope spreading が起こることを確認したものである。さらに、従来試みられた AIH にお

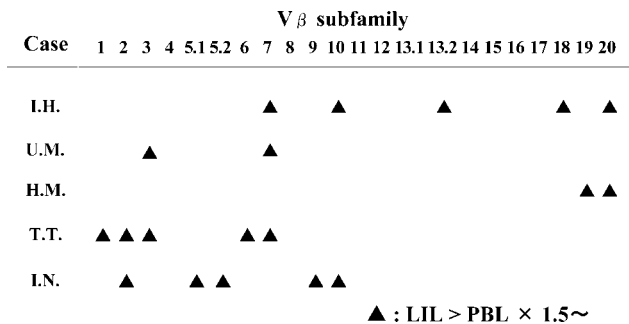


Fig. 6. Frequent used V β subfamily in autoimmune hepatitis patients.
LIL: liver infiltrating lymphocytes, PBL: peripheral blood lymphocytes

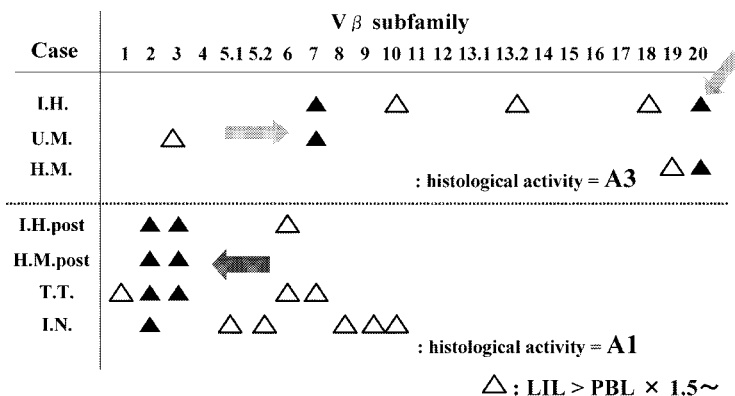


Fig. 7a. Vβ subfamily which was overexpressed dominantly in LIL of patients divided by histological activity

Upper three patients showed more severe histological activity and in these patients Vβ7 and 20 were observed predominantly in liver infiltrating lymphocytes, whereas in lower 4 patients who had already treated or showed lower histological activity TCR-Vβ8 and 10 were observed.

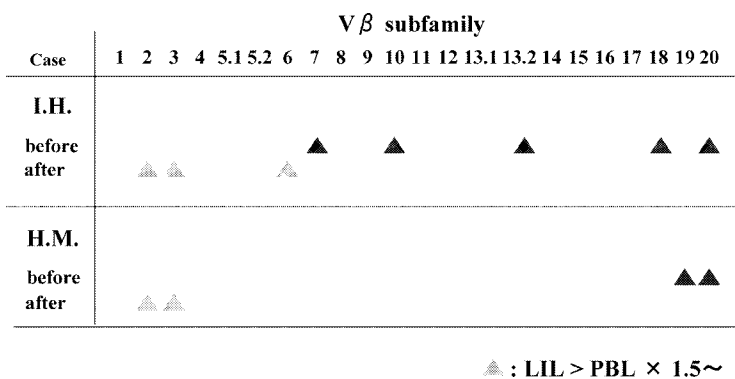


Fig. 7b. Alternation of the usage of Vβ repertoire in LIL before and after prednisolone treatment
Corticosteroid treatment changes the usage of TCR-Vβ subfamily

ける標的抗原物質や、肝細胞特異抗体の研究が成功しなかった要因としても重要な知見である。事実、すでに、筆者らは、非精製肝抗原を免疫した抗血清をそのまま用いる時に肝細胞障害性が観察されることを示している¹⁶⁾。epitope spreadingにより、ポリクローナルな抗体を用いた場合のみ肝細胞障害が観察できるとも解釈できる。

IV. 免疫学的肝細胞障害¹⁷⁾

1. 抗体依存性細胞免疫性細胞障害 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; ADCC)

免疫学的細胞障害には CTL を介した細胞障害

以外に抗体を介した細胞障害系、抗体依存性細胞免疫性細胞障害 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; ADCC)、補体依存性細胞障害 (complement-mediated cell-mediated cytotoxicity; CSCC) が知られている。

Fig. 8 に AIH 血清を用い標的細胞にラット (ウィスター系, 雄性) 初代培養肝細胞, 効果細胞に正常人ヒト末梢リンパ球を用いた ADCC 系の検討成績を示す。AIH 患者血清中には ADCC 惹起可能なラット肝細胞に対する抗体を含有している可能性を示す結果である。さらにラット肝細胞のホモジネート 105,000 G 遠心上清の Sephadex-G100 カラム濾過通過分画であるいわゆる Meyer

Table 4. Sequence analyses of CDR3 region of Vβ which were commonly overexpressed in LIL of patients with severe histological activity

| Vβ7 | | | Vβ20 | | |
|----------------------------------|-----------|-----|-------------------------------------|-----------|-----|
| I.H. : A24-B39, 52-C7-DR2, 4 | | | I.H. : A24-B39, 52-C7-DR2, 4 | | |
| CASS QLDRGG | YEQYFG | 2.7 | CAGS SG | STDTQYFG | 2.3 |
| CASS SLQGP | NEKLFFG | 1.4 | CAWG TC | NTEAFFG | 1.1 |
| CASS QDRAA | NTGELFFG | 2.2 | CAWS GG | STDTQYFG | 2.3 |
| CASS QDRAA | NTGELFFG | 2.2 | CAWG TC | NTEAFFG | 1.1 |
| CASS QGTGPW | VFG | 2.1 | CAWG TC | NTEAFFG | 1.1 |
| CASS QDGLN | NEQFFG | 2.1 | CAWG RTV | YEQYFG | 2.7 |
| CASS QSGTAN | NEQFFG | 2.1 | CAWS VRSGQGYG | KLFFG | 1.4 |
| | | | CAGS SG | STDTQYFG | 2.3 |
| | | | CAWD TK | FFG | 2.1 |
| | | | CAWC PGQ | NYGYTFG | 1.2 |
| U.M. : A24, 26-B61, 62-C3-DR2, 4 | | | H.M. : A11, 56-B54, 75-C1, 3-DR4, 8 | | |
| CASS QEGR | SYEQYFG | 2.7 | CAWS GSS | KNIQYFG | 2.4 |
| CASS QDGRNT | YNEQFFG | 2.1 | CART PAGAH | EQFFG | 2.1 |
| CASS RGLAH | TDTQYFG | 2.3 | CAWT PAGGH | EQFFG | 2.1 |
| CASS QAGA | NYGYTFG | 1.2 | CAWS VSGTGLH | PQHFG | 1.5 |
| CASS QGEG | SYNEQFFG | 2.1 | CAWS APDGTGA | EKLFFG | 1.4 |
| CASS QEGLAGD | EQYFG | 2.7 | CASS AS | SYEQYFG | 2.7 |
| CASS QDGKGA | YEQYFG | 2.7 | CAWT PAGGH | EQFFG | 2.1 |
| <i>N-D-N</i> | <i>Jβ</i> | | <i>N-D-N</i> | <i>Jβ</i> | |

Considering HLA of the patients, Vβ7 had quite similar sequence and the common first glutamine clearly detected.

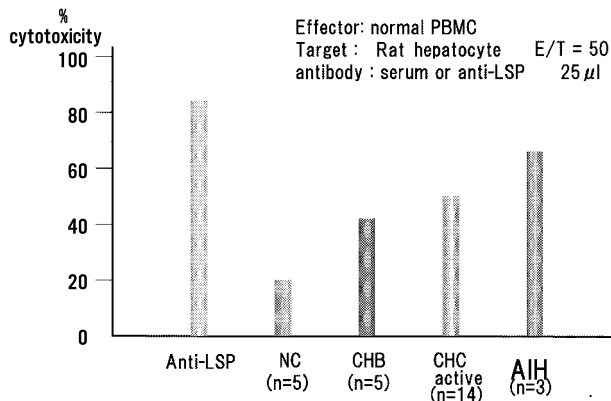


Fig. 8. Liver cell cytotoxicity induced by antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC). Anti-LSP rabbit sera resulted liver cell cytotoxicity by adding peripheral lymphocyte. The sera from autoimmune hepatitis patients also induced liver cell cytotoxicity.

NC : normal control, CHB : chronic hepatitis B, CHC : chronic hepatitis C, AIH : autoimmune hepatitis.

らの肝特異抗原分画 (liver specific protein; LSP) を家兎に免疫して得られた抗 LSP 抗体を用いた場合も同様に ADCC 活性が認められ、AIH 患者血清を LSP で吸収すると患者血清の ADCC 活性は消失した¹⁸⁾。すなわち、AIH 患者血清に含まれる ADCC 惹起可能成分はラット肝細胞を認識する成分を含有していることが示された¹⁹⁾。

2. ADCC の効果細胞²⁰⁾

ADCC を発現する効果細胞は Fc 受容体陽性の非 T 非 B リンパ球でいわゆる Null 細胞分画に属し K 細胞と呼称されている。筆者らはこの K 細胞を放射同位元素非使用で同定できる方法を開

発した。方法は Biberfeld らのプラーク法を改変したもので、標的細胞に単層化無核羊赤血球を用い抗体には抗羊赤血球ヤギ血清を用いた。検体となるヒト末梢リンパ球はあらかじめカルボニル鉄を添加し単球に貪食させた後、Focall を用いてヘパリン化全血から分離して調整した。この方法で AIH 症例の末梢血中 %K 細胞を求めると正常人に比し低下していることが明らかとなった (Fig. 9)。すなわち、AIH 症例は ADCC 惹起可能な血清抗体を保持しているものの、その効果細胞である K 細胞は末梢血では減少している事実が示された。K 細胞が減少している要因を明らかにする目的で、末梢血から、先の方法に準じて分離したり

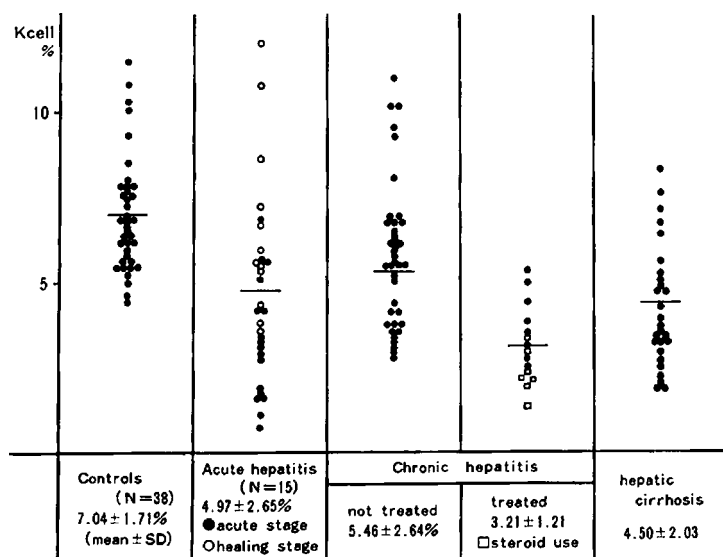


Fig. 9. The population of K-cell, an effector cell for ADCC, was reduced in chronic hepatitis compared to normal controls.

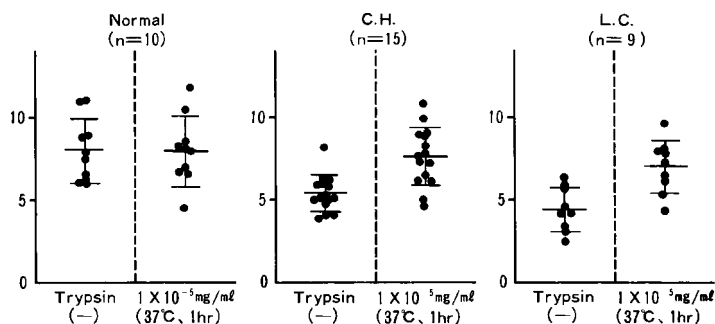


Fig. 10. Effect of enzymatic treatment on K-cell population

The decreased K cell population was recovered after 1 hour treatment of trypsin suggesting Fc-receptor of K-cell might be blocked by proteolytic substance.

ンパ球のトリプシン処理を行った。Fig. 10 に示すようにトリプシン処理により、低下していたAIH症例の%K細胞はほぼ正常値へと回復を示し、%K細胞の要因として、血清中にはFc受容体活性阻止物質の存在が示された。この血清因子はAIH症例で認められ、正常人血清には認められないことが、その後の検討で明らかになった。すなわち、AIHにおいては、ADCC発現可能な血清因子とともに、効果細胞であるK細胞の機能をFc受容体を介して抑制する因子が存在し、これらの複合状態で病態が形成されている可能性が示された。

3. その他の自己抗体¹⁹⁾

AIHでは抗核抗体を始めとする種々の自己抗体が陽性を示す²¹⁾。Fig. 11, 12に筆者らが検討した自己抗体の成績を示す。Fig. 11は肝細胞ホモジネート12,000G遠心上清分画いわゆる肝特異蛋白(LSP)に対する抗体を、Fig. 12は肝細胞特異的動物レクチンであるアシアロ糖蛋白受容体に対する抗体を検出したものであり、いずれもAIHで陽性頻度が高い。しかし、ウイルス性慢性肝炎でも陽性所見が得られることから、疾患特異性は明確とはなっていない。いずれにせよこうした肝

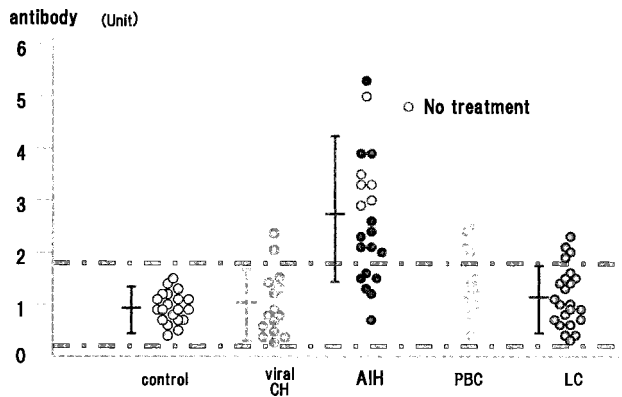


Fig. 11. Anti-liver membrane antibody titers

Anti-liver membrane antibody was detected predominantly in autoimmune hepatitis patients and the titer is much higher in untreated patients.
CH: chronic hepatitis, AIH: autoimmune hepatitis, PBC: primary biliary cirrhosis, LC: liver cirrhosis

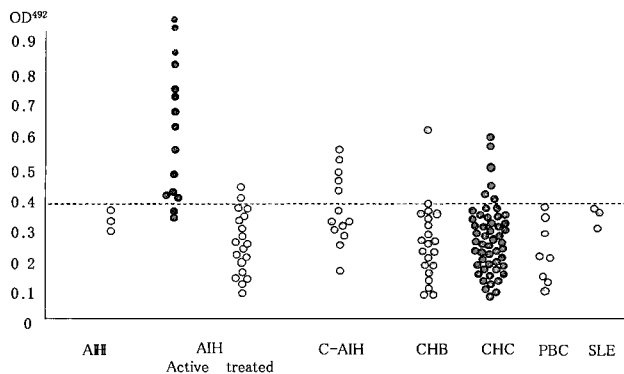


Fig. 12. Antibody titers of anti-asialoglycoprotein receptor antibody detected by ELISA

Antibody titers of anti-asialoglycoprotein receptor antibody tested by ELISA using HepG2 cell as a antigen source.
AH: acute viral hepatitis, AIH: autoimmune hepatitis, C-AIH: type C chronic hepatitis with autoimmune feature, CHB: chronic hepatitis B, CHC: chronic hepatitis C, PBC: primary biliary cirrhosis, SLE: systemic lupus erythematosus

細胞に対する自己抗体の出現は AIH の病態形成に深く関与することが示唆される所見である。

4. AIH モデル²²⁾

AIH の病態のさらなる解析には実験モデルの確立が重要であるが、AIH の病態は不明であり、解析に適した実験モデルは確立されているとはいえない状態である。

著者らは、AIH 解析に有力と考えられる、強力な抗原提示能を有す樹状細胞 (Dendritic cell; DC) と正常肝とほぼ同様の肝機能を示す樹状化肝癌細胞 (Hep1-6 細胞; Hep1-6) との融合細胞を用いた AIH 疾患マウスモデルを確立した。この方法はマウス骨髄から分離した樹状細胞と Hep1-6 をポリエチレングリコール存在下で細胞融合し、融合細胞を作成、この融合細胞を同種マウスの皮下に免疫するものである。3 回の皮下免疫感作により、肝臓のみに炎症が惹起できた。すなわち、樹状細胞により肝臓に特異的な免疫応答が成立したこととなり、AIH の病態解析実験モデルとして有用と考えられた。この肝細胞障害は融合細胞感作後に免疫応答を増強する IL-12 を付加することにより明らかに増悪し、さらに、感作マウスの脾細胞はマウスから作成した LSP 分画に対して増殖を示した。この成績も LSP 分画中に含まれる成分が AIH の病態成立に重要である事実を示すものである。

5. 治療²³⁾

AIH はわが国の診断指針にも記載されている

ように、CS が治療に有効である。しかし、わが国では症例の多くが中年以降の女性であることから、副作用による治療困難となる場合も少なくない。骨粗鬆症、糖尿病などの合併症に加え、とくに、美容的問題も重要であり、欧米においても服薬コンプライアンス低下の最も大きな要因ともされている。しかし、AIH の治療に際しては、再燃・増悪回避のために年余にわたり CS を服用することが必要であり、臨床的ジレンマとなっていた。

ウルソデオキシコール酸 (Ursodeoxycholic acid; UDCA) はヒト胆汁中に認められる Chenodeoxycholic acid の光学異性体であり、自己免疫性肝疾患の 1 つである PBC の生化学所見と予後改善に有用であることが明らかにされている。胆汁鬱滞を主徴とする PBC では利胆作用のある UDCA が有効なのは当然であるが、効果が認められる際、同時に PBC の特徴的所見とされている血清 IgM 上昇も改善する事実が認められ、UDCA の免疫学的効果が注目された。Fig. 13 は著者らの末梢リンパ球のレクチン刺激によるサイトカイン産生を微量全血培養で検討したものである。図に示すように、UDCA 添加は末梢血のサイトカイン産生を容量依存性に抑制し、UDCA が免疫調節作用を有することが明らかとなった。UDCA 添加濃度は比較的高濃度であり、血清中では実現不能な濃度であるが、肝臓は胆汁酸代謝の中心臓器であり、胆汁分泌の際の濃度はさらに高濃度であることから、UDCA は肝臓内の免疫担当細胞に

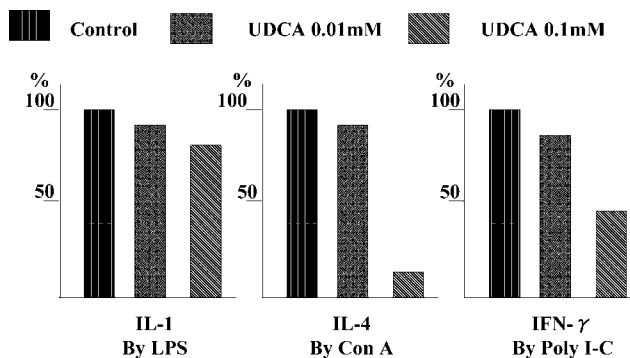


Fig. 13. Suppression of cytokine synthesis by UDCA.

By adding UDCA cytokine synthesis induced by IL-1, IL-4 and IFN- γ was suppressed in dose-response manner. The dosis of UDCA were approximately compatible to the concentration of UDCA in liver.

選択的に作用する可能性が示された。すなわち、UDCA は全身の免疫機構に影響を与えることなく、肝臓の免疫を調節可能とする臓器選択性を有した免疫調節薬として有用であると考えられる。

現在 AIH に対する UDCA の有用性について厚生労働省特定疾患「難治性の肝疾患に関する研究」班において臨床研究が進められており、この成果により、より副作用のない治療法の確立が期待される。

6. C 型肝炎と AIH²⁴⁾

わが国では中高年の C 型肝炎ウイルス (hepatitis C virus; HCV) 感染率が高く、また AIH の好発年齢が中高年であることから AIH と HCV 感染が合併する症例が存在する。HCV 感染の駆逐を目指す治療の第一はインターフェロン (Interferon; IFN) であるが、IFN は免疫増強作用があり、自己免疫反応を増悪させる可能性がある。一方 AIH に用いられる CS はその投与により HCV 増殖を増強することが知られている。すなわち両者の治療は相反する側面をもつため、AIH-HCV 感染合併症例の治療に当たっては十分な注意が必要である。筆者らは、HCV 感染を伴う AIH に対する CS 治療が安全に施行可能であり、また、AIH による肝炎の活動性が低くかつ HCV 感染状態であれば IFN 効果が得やすい、すなわち血清 HCV-RNA が低値あるいは genotypelb 以外では安全に IFN 治療も行えることを明らかにしている。残念ながら、治療選択を明快にする指標は臨床的に確立されていないが、治療が可能であることを明らかにした意義は大きいと思われる。

V. お わ り に

筆者が継続している検討の現時点での成績を概説した。これら検討には旧第一内科第二研究室の諸兄、現在の消化器・肝臓内科の諸兄のご協力によるものであり、深謝する。

また、K 細胞同定検査法については日本抗体研究所、K 細胞抑制因子の検討には臨床医学研究所長 (当時) 高橋弘教授 (当時)、HLA、TCR の検討について青戸病院副院長 (当時) 相澤良夫博士が中心となって検討を進めたものであり、これについても謝意を表したい。

稿を終るにあたり、本発表の機会を与えていただいた、成医会会長 栗原敏学長をはじめとする運営委員の諸先生に衷心より感謝申し上げます。

なお、本稿の要旨は第 120 回成医会総会宿題報告で報告した。

文 献

- 1) Toda G, Zeniya M, Watanabe F, Imawari M, Kiyosawa K, Nishioka M, et al. Present status of autoimmune hepatitis in Japan—correlating the characteristics with international criteria in an area with a high rate of HCV infection. *J Hepatol* 1997; 26: 1207-12.
- 2) Zeniya M, Kuramoto A, Takahashi H, Watanabe F, Aizawa Y, et al. The present status of autoimmune hepatitis and its heterogeneity. In: Yamanaka M, et al, editors. *Progress in hepatology I*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1995.
- 3) Zeniya M, Watanabe F, Aizawa Y, Toda G. Immunogenetic background of hepatitis B virus infection and autoimmune hepatitis in Japan. *Gastroenterol Jpn* 1993; 28: 70-5.
- 4) Zeniya M, Watanabe F, Toda G. Genetic Background of Autoimmune hepatitis in Japan. In: Nishioka M, Toda G, Zeniya M, editors. *Autoimmune hepatitis*. Amsterdam: Elsevier; 1994. p. 267-80.
- 5) Toda G, Watanabe F, Zeniya M. Autoimmune hepatitis in Japan: epidemiology and clinical features. In: Yamanaka M, et al, editors. *Progress in hepatology 5*. Amsterdam: Elsevier; 1999. p. 79-86.
- 6) Ota M, Seki T, Kiyosawa K, Furuta S, Hino K, Kondo T, et al. A possible association between basic amino acid at position 13 of DRB1 chains and autoimmune hepatitis. *Immunogenetics* 1992; 36: 49-55.
- 7) Seki T, Ota M, Furuta S, Fukushima H, Kondo T, Hino K, et al. HLA class II molecules and autoimmune hepatitis susceptibility in Japanese patients. *Gastroenterology* 1992; 103: 1041-7.
- 8) Doherty DG, Donaldson PT, Underhill JA, Farrant JM, Duthie A, Mieli-Vergain G, et al. Allelic sequence variation in the HLA class II genes and proteins in patients with autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1994; 19: 609-15.

- 9) Strettell MDI, Donaldson PT, Thomson LJ, Santrach PJ, Moores SB, Czaja AJ, et al. Allelic basis for HLA-encoded susceptibility to type 1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1997; 112: 2028-35.
- 10) Agarwal K, Czaja AJ, Jones DEL, Donaldson PT. CTLA-4 polymorphisms and susceptibility to type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2000; 31: 49-53.
- 11) Cookson S, Constantin PK, Clare M, Underhill JA, Bernal W, Czaja AJ, et al. Frequency and nature of cytokine gene polymorphisms in type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 851-6.
- 12) Czaja AJ, Sievers C, Zein NN. Nature and behaviour of serum cytokines in type 1 autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1028-35.
- 13) Takahashi H, Aizawa Y, Zeniya M, Toda G. NKT cells and autoimmune liver diseases. In: Nishioka M, et al, editors. *Autoimmune liver disease: its recent advances*. Amsterdam: Elsevier; 2000. p.63-72.
- 14) Zeniya M, Kuramoto A, Takahashi H, Aizawa Y, Toda G. Pathophysiology of liver damage in autoimmune hepatitis. *Pathophysiology* 1994; 1: 172.
- 15) Zeniya M, Takahashi H, Aizawa Y, Toda G. Molecular mechanisms of T cell responses of autoimmune hepatitis. In: Tsuji T, Higashi T, Zeniya M, KHMeyer zum Buschenfelde, editors. *Molecular biology and immunology in hepatology*. Amsterdam: Elsevier; 2002. p. 229-37.
- 16) Zeniya M, Kuramoto A, Takahashi H, Aizawa Y, Toda G. Immunological mechanism of autoimmune hepatitis: a review on the molecular analysis of T cell receptors. In: Yamanaka M, et al, editors. *Progress in Hepatology* 5. Amsterdam: Elsevier; 1999. p. 95-104.
- 17) Zeniya M, Takahashi H, Aoyama N. Reevaluation of liver specific protein and immunogenetic analysis on the pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Front Mucosal Immunol* 1991; 2: 61-4.
- 18) Zeniya M, Arashiyama A, Ando H. Electrophoretic analysis of liver specific lipoprotein (LSP). In: Hirai H, editor. *Electrophoresis '83*. 1984. p. 675-80.
- 19) Zeniya M. Autoantibodies to hepatocyte plasma membrane antigens in autoimmune hepatitis: old and new subjects; what do we need? [editorial; comment]. *J Gastroenterol (Jpn)* 2000; 35: 252-3.
- 20) Zeniya M. Immunological study on chronic liver diseases. *Jikeikai Med J* 1981; 28: 311-30.
- 21) Sasaki M, Yamauchi K, Tokushige K, Isono E, Komatsu T, Zeniya M, et al. Clinical significance of autoantibody to hepatocyte membrane antigen type 1 autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 96: 846-51.
- 22) Zeniya M. Lessons from animal models of primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 342-3.
- 23) Zeniya M, Toda G. Autoimmune liver disease: current therapy. *Intern Med* 2000; 39: 346-7.
- 24) Zeniya M, Aizawa Y, Watanabe F, Kawabe T, Hara M, Sakaguchi M, et al. HCV-marker-positive autoimmune type chronic active hepatitis-possible relation between HCV infection and liver autoreaction. *Liver* 1994; 14: 206-12.