

肝疾患におけるパラダイムシフトと自己免疫性肝疾患

山 際 訓

新潟大学大学院医歯学総合研究科

消化器内科学分野

(主任：寺井崇二教授)

A Paradigm Shift in the Management of Liver Diseases: Increasing Importance of Autoimmune Liver Diseases

Satoshi YAMAGIWA

Division of Gastroenterology and Hepatology,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

(Director: Prof. Shuji TERAI)

要 旨

新規経口抗ウイルス剤（直接作用型抗ウイルス剤）の開発などにより肝疾患の中心であったウイルス性肝炎が撲滅に向かう一方で、今後も更に増加が予想される自己免疫性肝疾患と肥満関連肝疾患の重要性が高まっている。大きな転換期を迎えた肝疾患診療における自己免疫性肝疾患の位置づけと現状、および自然免疫応答の重要性が高い特殊な免疫環境を有する肝臓に発症する自己免疫性肝疾患の免疫病態について、当科での研究成果を報告した。

キーワード：C型慢性肝炎，原発性胆汁性胆管炎，toll-like receptor，自己免疫性肝炎，follicular helper T細胞

はじめに

我が国における肝硬変の成因に関する全国調査によると、B型肝炎ウイルスキャリアが100万～130万人、C型肝炎ウイルスキャリアは100～150万人とも推定され、国民病とも言われていたウ

ルス性肝炎、特にC型肝炎による肝硬変は減少傾向にあり、2014年度の集計では53%まで減少している¹⁾。一方で、非B非C型肝炎硬変は33.5%と増加が認められており、特に糖尿病や肥満人口の増加による非アルコール性脂肪肝炎（non-alcoholic steatohepatitis；NASH）が増加傾向にあるな

Reprint requests to: Satoshi YAMAGIWA
Division of Gastroenterology and Hepatology,
Niigata University Graduate School,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科 消化器内科学分野
山 際 訓

ど、C型肝炎ウイルスに対する経口の直接作用型抗ウイルス剤(direct-acting antivirals; DAA)の開発と生活習慣の変化などにより肝疾患診療におけるパラダイムシフトが生じている。

そのような動向の中で、原発性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis; PBC)や自己免疫性肝炎(autoimmune hepatitis; AIH)などの自己免疫性肝疾患は、炎症性腸疾患などと同様に増加傾向にあり、肝硬変の成因別頻度においてもPBCとAIHは非B非C型肝炎硬変のそれぞれ8.0%と6.8%を占めており、肝疾患診療における重要性が高まっている²⁾。

我々は自然免疫応答の重要性が高い肝免疫の特殊性に着目し、自己免疫性肝疾患における免疫病態に関する研究を続けている。本稿では自己免疫性肝疾患、特にPBCとAIHにおける免疫異常に関して、肝生検などの臨床検体を用いた我々の研究成果について概説する。

肝免疫の特殊性と自然リンパ球

肝臓は糖代謝や脂質代謝などの物質代謝において中心的な役割を果たすだけでなく、豊富な免疫担当細胞を保持することにより肝臓のみならず全身の免疫応答を調整する免疫臓器としても重要な役割を果たしている。肝臓には門脈血を介して腸内細菌や細菌由来成分、食事性抗原などの外来抗原が恒常的に流入しているため、natural killer (NK)細胞やnatural killer T (NKT)細胞といった自然免疫担当細胞が高頻度に存在しており、異物に対する防御システムの最前線として機能している³⁾⁻⁶⁾。また、NK細胞やNKT細胞以外にも、自然免疫を担当するunconventional T細胞としてmucosal-associated T(MAIT)細胞が肝臓には多く存在することが明らかになるとともに、近年、機能的に異なる各種の自然リンパ球(innate lymphoid cells; ILCs)が同定され注目されている。

PBC単球のTLR4を介した刺激に対する高反応性

PBCは病因・病態に自己免疫学的機序が想定される慢性胆汁うっ滞性肝疾患であり、厚生労働省「難治性疾患」調査研究班の全国調査によると、男女比は約1:7で女性に多く、女性の好発年齢は50歳代、男性は60歳代である⁷⁾。皮膚掻痒感や黄疸、腹水などの症状を呈する症候性と症状の無い無症候性に分類されるが、わが国の最近の新規診断例は80%以上が無症候性である⁷⁾。primary biliary cirrhosis(原発性胆汁性肝硬変)という病名は60年以上前に提唱され、当時は多くの症例が進行した肝障害を呈していたことから、この病名が広く受け入れられ使用されてきた。しかしながら、現在では早期診断とウルソデオキシコール酸による早期治療により、肝硬変まで進行する症例はごく少数となっている現状を踏まえ、PBCという略語を生かしながら2015年に欧米ではprimary biliary cholangitisへと病名が変更された。それに伴い、わが国でも原発性胆汁性胆管炎への病名変更が進められている⁸⁾。

PBCの病因として古くから感染症因子の関与が提唱されており、特異的な自己抗体である抗ミトコンドリア抗体(antimitochondrial antibodies; AMA)が大腸菌などのピルビン酸脱水素酵素複合体E2コンポーネント(PDC-E2)に対して交差反応性を示すことや、PDC-E2に対する自己反応性T細胞クローンが認識するエピトープ内の必須アミノ酸配列(ExDKモチーフ)と類似のモチーフが大腸菌のPDC-E2にも存在することから、PBC病態発生の原因として外来抗原、特に菌体成分との分子相同性による自己免疫機序が有力な仮説となっている⁹⁾。PBC症例においてはPDC-E2を認識するCD4陽性T細胞とともにCD8陽性T細胞の存在が報告されており、小葉間胆管に自己抗原(PDC-E2)あるいは相同性をもつ分子が誤って提示されることにより、この抗原を認識できるT細胞が活性化を受け、胆管障害が進行するというモデルが提唱されてきた。しかしながら、以前から感染症因子の関与が提唱され

てきたにも関わらず、感染に対する初期防御反応として重要な自然免疫はPBC病態においてこれまで重要視されておらず、細菌などの微生物の認識に重要なToll-like receptor (TLR) の発見に続く自然免疫研究の進歩とともに、PBC病態における自然免疫の関与が注目されている。感染の最前線で生体防御を担う重要な役割を果たしている自然免疫は従来非特異的の反応と考えられていたが、抗原提示細胞上などに発現しているTLRと呼ばれる膜蛋白を用いて、宿主には存在しない微生物に特有の構造 (pathogen-associated molecular patterns; PAMPs) をきわめて特異的に認識し、炎症・免疫応答を誘導することが明らかとなっている⁹⁾。

我々はPBC症例の末梢血単核球を用いて細菌構成成分の認識に重要であるTLR2とTLR4の発現と、それぞれのリガンドで刺激後の反応について解析した¹⁰⁾。TLR2/4の発現自体は無症候性PBC症例と健常人では有意な違いは認められなかったものの、無症候性PBC症例では健常人と比較してTLR4のリガンドであるlipopolysaccharide (LPS) で刺激後のtumor necrosis factor (TNF)- α とinterleukin (IL)-1 β 産生が有意に高く、また刺激により核内に移行したnuclear factor (NF)- κ B p65も高値を示した。MaoらもPBC症例の末梢血単核球から分離したCD14陽性単球をLPSで刺激すると、健常人と比較してIL-1、IL-6、IL-8産生が有意に高いことを報告しており¹¹⁾、また、無刺激な状態ではTLR4発現は健常人と有意差を認めないのに対し、リガンド刺激による反応性が健常人と異なるというのはKikuchiらのPBC症例におけるTLR9に関する報告と同様であった¹²⁾。前述したようにPBC肝組織、胆汁中にはLPSなどの菌体成分の存在が報告されており、このようなPBC症例におけるLPSに対する高反応性が、PBCの胆管病変の形成・進展に関与している可能性が示唆される。

PBCにおけるMAIT細胞

MAIT細胞は、主要組織適合複合体(MHC)クラ

スI様分子であるMR1分子拘束性の多様性に乏しいT細胞受容体 α 鎖を発現し、感染制御に重要な自然リンパ球として注目されているが、自己免疫疾患への関与については依然として未解明な部分が多い。我々はPBC症例を対象とし、慢性ウイルス性肝炎(CVH)と外科的肝切除術が行われた転移性肝腫瘍例の正常肝(Control)を対照とするとともに、末梢血は健常人からも採取後、末梢血および肝組織より単核球を分離しフローサイトメトリーにより解析するとともに、MAIT細胞の機能を*in vitro*で解析した。T細胞中のMAIT細胞比率は、Control群では末梢血1.6%(中央値)に対し肝臓内6.8%と有意に高いのに対し、PBC群では肝臓内1.9%とControl群やCVH群肝臓内(8.9%)と比較して有意に低下していた。また、末梢血中MAIT細胞における活性化マーカーCD69と、サイトカインレセプターIL-7RとIL-18R発現はPBC群でControl群と比較して有意に低下していた。*In vitro*での機能解析では、抗CD3/CD28-coupled beadsのみの刺激時と比較してIL-7の添加によりMAIT細胞からのIFN- γ やIL-17、TNF- α の産生は有意に亢進したが、PBC群のMAIT細胞は反応性に乏しくサイトカイン産生能は低下していた。以上より、PBCのMAIT細胞はIL-7反応性を含む活性化能が低下した疲弊状態にあると考えられ、肝臓内MAIT細胞の著明な減少は肝臓内での過剰な活性化が原因となっている可能性があり、PBC病態形成の解明に興味深い知見と考えられた。

AIHにおけるTfh細胞

AIHは自己肝細胞を標的とした免疫異常が発症や病態の進展に関与すると考えられ、通常は慢性、進行性に肝障害を来す疾患である。中年以降の女性に好発し、他の自己免疫性疾患の合併、自己抗体の出現や高 γ グロブリン血症などの免疫学的異常を有することを特徴としている。そのような自己抗体産生に重要な細胞群として、CD4陽性T細胞サブセットの1種である濾胞性ヘルパーT細胞(follicular helper T cells; Tfh)があり、Tfh細

胞はB細胞の分化・誘導を促進する。Tfh細胞の異常が高 γ -グロブリン血症と自己抗体の出現を励起することで各種の自己免疫疾患の主たる病態を担っている可能性が示されており、マウスAIHモデルにおいてもTfh細胞の異常が発症に関与していることが報告されている¹³⁾¹⁴⁾。また、Tfh細胞は機能的にいくつかのsubsetに分類されることが示されており、ヘルパーT細胞のsubsetであるTh1細胞、Th2細胞およびTh17細胞と類似した機能を持つTfh1、Tfh2およびTfh17 subsetや、活性化状態により分類可能なsubsetなどの存在が明らかにされつつある¹⁴⁾。AIH症例、PBC症例と健常人(HC)を対象とし、肝生検組織と末梢血を使用した検討では、AIH診断時の肝組織中CD4⁺CXCR5⁺Tfh細胞の頻度は同一症例の末梢血中Tfh細胞頻度と有意に相関し、肝内Tfh細胞は活性化マーカーprogrammed cell death-1(PD-1)やinducible T cell co-stimulator(ICOS)発現が末梢血中と比較して有意に上昇していた。IL-21を産生し、B細胞と形質細胞の分化誘導に強く働くとされるCCR7⁻PD-1⁺Tfh subsetの末梢血中頻度は、AIH診断時にはHCと比較して有意に増加し、その頻度は血清IgG値と正の相関を認めるとともに、PSL使用後には診断時と比較して有意に減少した。一方、PBC症例ではCXCR3⁻CCR6⁻Tfh2 subsetの末梢血中頻度がHCと比較して有意に減少し、CXCR3⁺CCR6⁻Tfh1 subsetがHCより増加していたのに対し、AIH症例ではTfh1とTfh2 subsetには有意な変化は認めなかった。以上より、AIH肝組織中には活性化したTfh細胞が多く存在しており、血清IgG値と正の相関が認められた末梢血中CCR7⁻PD-1⁺Tfh subsetがPSL使用により有意に減少するなど、AIHの免疫病態におけるTfhの重要性が示唆されるとともに、PBCとのTfh1/Tfh2 subsetの違いなどの相違が示唆された。

最後に

大きな転換期を迎えつつある肝疾患診療における自己免疫性肝疾患の位置づけと現状、および

PBCとAIHにおける免疫異常に関する我々の研究成果について概説した。薬物療法により比較的コントロール良好となる症例が多いとはいえ、PBCでは依然として肝移植が必要となる進行例や、AIHでは急性発症により肝不全を来す症例があるなど、病態の解明による根本的な治療法の開発が急務である。

文 献

- 1) 肝硬変の成因別実態 2014：泉 並木 監修。医学図書出版。2015年。
- 2) 我が国における非B非C型肝硬変の実態(2011年)：高後 裕 監修。響文社。2012年。
- 3) Yamagiwa S, Matsuda Y, Ichida T, Honda Y, Takamura M, Sugahara S, Ishikawa T, Ohkoshi S, Sato Y and Aoyagi Y: Sustained response to interferon-alpha plus Ribavirin therapy for chronic hepatitis C is closely associated with increased dynamism of intrahepatic natural killer and natural killer T cells. *Hepatol Res.* 38: 664-672, 2008.
- 4) Kamimura H, Yamagiwa S, Tsuchiya A, Takamura M, Matsuda Y, Ohkoshi S, Inoue M, Wakai T, Shirai Y, Nomoto M and Aoyagi Y: Reduced NKG2D ligand expression in hepatocellular carcinoma correlates with early recurrence. *J Hepatol.* 56: 381-388, 2012.
- 5) Aso-Ishimoto Y, Yamagiwa S, Ichida T, Miyakawa R, Tomiyama C, Sato Y, Watanabe H and Aoyagi Y: Increased activated natural killer T cells in the liver of patients with advancedstage primary biliary cirrhosis. *Biomed Res.* 35: 161-169, 2014.
- 6) Yamagiwa S, Sato Y, Ichida T, Setsu T, Tominaga K, Kamimura H, Tsuchiya A, Takamura M, Matsuda Y and Aoyagi Y: Imbalance between CD56^{bright} and CD56^{dim} natural killer cell subsets in the liver of patients with recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Biomed Res.* 35: 177-184, 2014.
- 7) 廣原淳子, 仲野俊成, 關 壽人, 岡崎和一, 中沼安二, 坪内博仁：原発性胆汁性肝硬変(PBC)全国調査にみる本邦PBCの病態と予後の変遷。日

- 消誌. 110: 8-15, 2013.
- 8) 下田慎治, 田中 篤: PBC “cirrhosis” から “cholangitis” へ. 日消誌. 113: 36-37, 2016.
 - 9) 山際 訓, 本田 稔, 高村昌昭, 松田康伸, 市田隆文: Toll-like receptors: PBC 病態形成への関与. 肝胆臓. 51: 565-572, 2005.
 - 10) Honda Y, Yamagiwa S, Matsuda Y, Takamura M, Ichida T and Aoyagi Y: Altered expression of TLR homolog RP105 on monocytes hypersensitive to LPS in patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 47: 404-411, 2007.
 - 11) Mao TK, Lian ZX, Selmi C, Ichiki Y, Ashwood P, Ansari AA, Coppel RL, Shimoda S, Ishibashi H and Gershwin ME: Altered monocyte responses to defined TLR ligands in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 42: 802-808, 2005.
 - 12) Kikuchi K, Lian ZX, Yang GX, Ansari AA, Ikehara S, Kaplan M, Miyakawa H, Coppel RL and Gershwin ME: Bacterial CpG induces hyper-IgM production in CD27⁺ memory B cells in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology.* 128: 304-312, 2005.
 - 13) Maruoka R, Aoki N, Kido M, Iwamoto S, Nishiura H, Ikeda A, Chiba T and Watanabe N: Splenectomy prolongs the effects of corticosteroids in mouse models of autoimmune hepatitis. *Gastroenterology.* 145: 209-220, 2013.
 - 14) Schmitt N, Bentebibel SE and Ueno H: Phenotype and functions of memory Tfh cells in human blood. *Trends Immunol.* 35: 436-442, 2014.
-