

肝疾患難病「原発性胆汁性肝硬変」の新規マーカーによる予後予測

中村 稔¹⁾²⁾ 相葉佳洋¹⁾ 小森敦正¹⁾²⁾ 石橋大海¹⁾²⁾

IRYO Vol. 63 No. 6 (357-362) 2009

要旨

原発性胆汁性肝硬変：primary biliary cirrhosis (PBC) はいまだ根治的な治療法が確立していない肝疾患難病の一つであるが、生涯ほとんど進行しない症例や進行して肝移植が必要となる症例が存在する。PBCの診断には、本疾患に特異的に出現する抗ミトコンドリア抗体：anti-mitochondrial antibodies (AMA)の測定がきわめて有用であるが、AMAはPBCの活動性や長期予後の診断には有用ではないとされ、PBCの長期予後診断に有用なバイオマーカーは知られていなかった。最近われわれは、国立病院機構政策医療肝疾患共同研究グループ：National Hospital Organization Study Group for Liver Disease in Japan (NHOSLJ)のコホート研究により、PBCの長期予後の診断には、核膜孔蛋白 (gp210抗原)に対する自己抗体 (抗gp210抗体)の測定が有用であることを明らかにした。さらに、抗gp210抗体が黄疸を呈し肝不全へ進行するタイプ (肝不全型)の強い危険因子であるのに対して、抗セントロメア抗体が黄疸は呈さないが門脈圧亢進症へ進展するタイプ (門脈圧亢進症型)の危険因子であることも明らかにした。抗gp210抗体と抗セントロメア抗体の測定で予後を推定することが可能となり、より早い時期から対策 (治療計画)を立てることができるようになった。

キーワード 原発性胆汁性肝硬変 (PBC), 抗gp210抗体, 抗セントロメア抗体, 予後予測, 多施設共同研究

はじめに

現在、わが国では、いわゆる“難病 (昭和47年の難病対策要綱によって定義)”の中から123疾患が難治性疾患克服研究事業対象疾患 (特定疾患)に指定され、うち45疾患の医療費が公費負担助成の対象と

なっている。原発性胆汁性肝硬変：primary biliary cirrhosis (PBC)も、公費負担助成対象となっている特定疾患の一つであり、厚生労働科学研究費補助金により調査研究班が組織され、実態調査や原因究明、治療法の確立などに関する研究が行われている (難病情報センター <http://www.nanbyou.or>.)

1) 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 2) 長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻肝臓病学講座
別刷請求先：中村 稔 長崎医療センター 臨床研究センター内 長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科肝臓病学講座
〒856-8562 長崎県大村市久原2-1001-1
(平成20年8月2日受付, 平成21年2月13日受理)

New Biomarkers for the Detection of Disease-progression in Primary Biliary Cirrhosis, an Intractable Liver Disease
Minoru Nakamura¹⁾²⁾, Yoshihiro Aiba¹⁾, Atsumasa Komori¹⁾²⁾ and Hiromi Ishibashi, NHO Nagasaki Medical Center and Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

Key Words: primary biliary cirrhosis (PBC), anti-gp210 antibody, anti-centromere antibody, prediction of prognosis, multicenter cohort study

表1 原発性胆汁性肝硬変で出現する自己抗体とその対応抗原

自己抗体	対応抗原
・抗ミトコンドリア抗体	
抗PDC抗体	PDC-E 2 (74kD) PDC-E 3 BP (50kD) PDC-E 1 a (41kD)
抗OGDC抗体	OGDC-E 2 (48kD)
抗BCOADC抗体	BCOADC-E 2 (52kD)
・抗核抗体	
抗核膜抗体	gp210 (核膜孔蛋白210kD) p62 (核膜孔蛋白62kD) Lamin B Receptor (58kD)
抗核小体抗体	sp100 (100kD) PML SUMO
抗セントロメア抗体	CENP-B (80kD)

jp/).

PBCのような稀有で慢性に経過する疾患では、その原因究明や治療法の確立のためには、長期間にわたる全国規模での共同研究が不可欠である。われわれは、平成15年度から国立病院機構政策医療肝疾患共同研究グループ (NHOSLJ) の中に PBC 研究班 (参加25施設) を組織し、多施設共同研究を開始した。

PBCには、長期間経過を観察してもほとんど進行しない症例 (予後良好群) から、黄疸、肝硬変、肝不全へ進行し肝移植以外に救命方法がない症例 (予後不良群) まで、さまざまな病態ないしは重症度の症例が存在することから、まず、これらの予後良好群と不良群とを発症早期に鑑別するための血清および遺伝子バイオマーカーの同定を目指して臨床研究を開始した。

今までに、核膜孔蛋白の構成成分のひとつである gp210 に対する自己抗体 (抗 gp210 抗体) が PBC の肝不全型 (黄疸型) 進行の強い危険因子であること、抗セントロメア抗体が門脈圧亢進症型 (非黄疸型) 進行の危険因子であることを見出し、自己抗体をバイオマーカーとした PBC の新しい病型分類を提唱している¹⁾²⁾。

本総説では、この病型分類提唱のきっかけとなった抗 gp210 抗体の臨床的意義についてわれわれのデータを中心に紹介するとともに、PBC の進展機構に関する現時点での考え方についても紹介する³⁾。

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) とは

PBC は肝内小葉間胆管の障害・破壊を呈する慢性非化膿性破壊性胆管炎を特徴とする慢性の肝疾患である。中年女性に好発し、初期には無症状のことが多いが、典型例では、進行すると全身の掻痒感、食道静脈瘤、腹水、黄疸、脳症が出現して肝不全に至り、究極的には肝臓移植以外に救命方法がない。平成2年からは特定疾患に指定され、医療費の公費負担対象となる症候性 PBC 患者は年間約500-1,000人で、現在までに約15,000人が登録されている。病因に関しては、AMA や抗核抗体などの自己抗体が高率に出現することや門脈域に小葉間胆管を攻撃しているように見えるリンパ球の浸潤を認めることから、小葉間胆管を標的とする自己免疫疾患と考えられているが、その発症・進展機構の詳細についてはいまだ明らかではない。

近年、健診と診断法の普及により、肝機能異常を契機に AMA を検査し早期診断される症例や、ウルソデオキシコール酸 (ursodeoxycholic acid (UDCA)) 投与により肝機能が正常化し、長期間の経過観察でも病状の進行を認めない無症候性の症例が増加しているが、種々の治療にもかかわらず病状が進行し、肝硬変・肝不全に至る症例が約10-20%存在すると推定されている。

PBC に出現する自己抗体

本症では、ミトコンドリアや核成分に対するさまざまな自己抗体が出現することが知られている (表1)。AMA はきわめて疾患特異性が高く、PBC 患

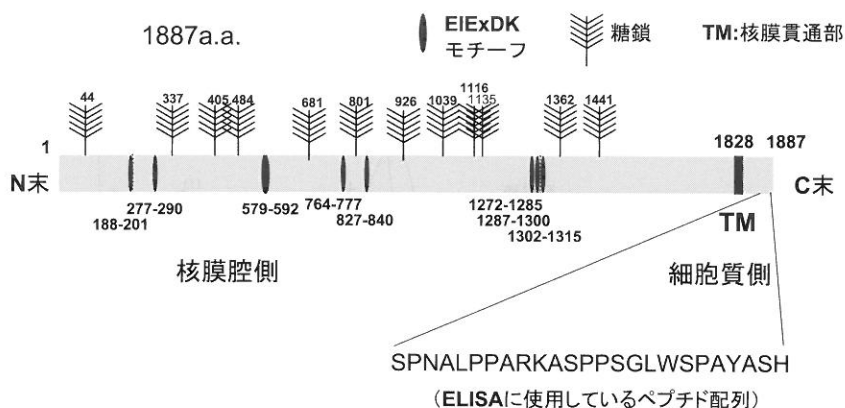


図1 核膜孔蛋白 gp210の構造

者の90%以上に陽性となるため、その診断には不可欠の検査項目となっている。核膜孔蛋白 (gp210) や核小体蛋白 (sp100) に対する自己抗体も、陽性率は約20-30%と高くはないが、PBC患者にきわめて特異的に検出されるため、その診断に有用である。特異性は高くはないが、抗セントロメア抗体も20-40%の症例で陽性となる。

一方、PBCの活動性の評価や予後の診断に有用な自己抗体としては、gp210やsp100などの核抗原に対する自己抗体の有用性を示唆する少数の報告はあったが、いずれも横断的研究からの結論であり、PBC症例を長期間観察したコホート研究の報告はなかった。そこでわれわれは、AMAの主要標的抗原であるピルビン酸脱水素酵素E2コンポーネント (PDC-E2) とgp210蛋白との間にE1ExDKモチーフを介する分子相同性があることを見出していたことから (図1)⁴⁾、gp210蛋白に対する免疫応答の出現とPBCの進展との関係に興味を持ち、抗gp210抗体の測定を開始した²⁾。

抗gp210抗体測定系の確立とPBCの長期予後

gp210は、核膜孔を構成する一回膜貫通型の1,887アミノ酸よりなる分子量21,000の糖蛋白で、N末が核膜腔に、C末が細胞質側に局在する (図1)。膜貫通部よりN末は、約1,800のアミノ酸より構成され糖鎖を多く含むのに対し、C末は60個のアミノ酸からなるペプチドで糖鎖結合部位は存在しない。その機能については核膜孔の構成成分であること以外はいまだ明らかになっていない。

gp210に対する自己抗体が結合する抗原部位はN末とC末の両方に存在することが報告されていたが、われわれは、C末のペプチド (SPNALPPAR-

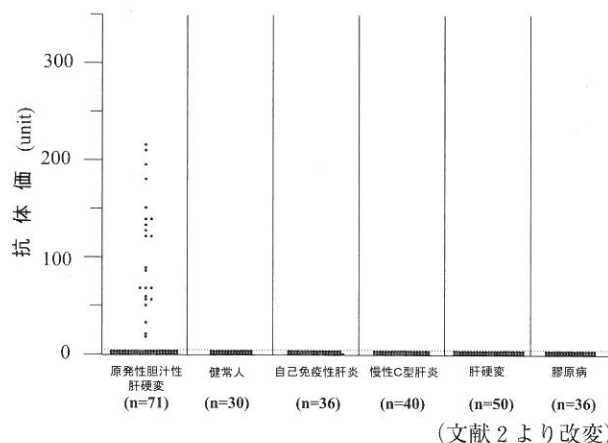


図2 gp210-C末ペプチドに対する血清抗体価

KASPPSGLWSPAYASH) (図1) を用いた enzyme-linked-immunosorbent-assay (ELISA) が、精製あるいはコンビナント gp210蛋白を用いた免疫ブロット法やELISAに比べて、抗gp210抗体検出の感度ははるかに優れていたことから、この25-merのgp210-C末のペプチドを用いたELISAを用いてgp210抗体の測定を開始した²⁾。このアッセイ系では、抗gp210抗体はPBC患者でのみ検出され、他の疾患 (自己免疫性肝炎、慢性C型肝炎、肝硬変、膠原病) ではまったく検出されず、PBCにきわめて特異性の高い自己抗体を検出していることが確認された (図2)²⁾。

次に、長崎医療センターで過去30年間に定期的に血清が保存されていたPBC症例の抗gp210抗体価を経時的に測定した (図3)。gp210抗体が持続陽性の10症例のうち6症例は観察期間中に肝不全死か肝移植に至っていたが (group A)、抗gp210抗体がUDCA投与により陰性化した症例は1例も肝不全や肝移植には至らず全例生存していた (group B)。NHOSLJでの71症例のKaplan-Meier法による解析

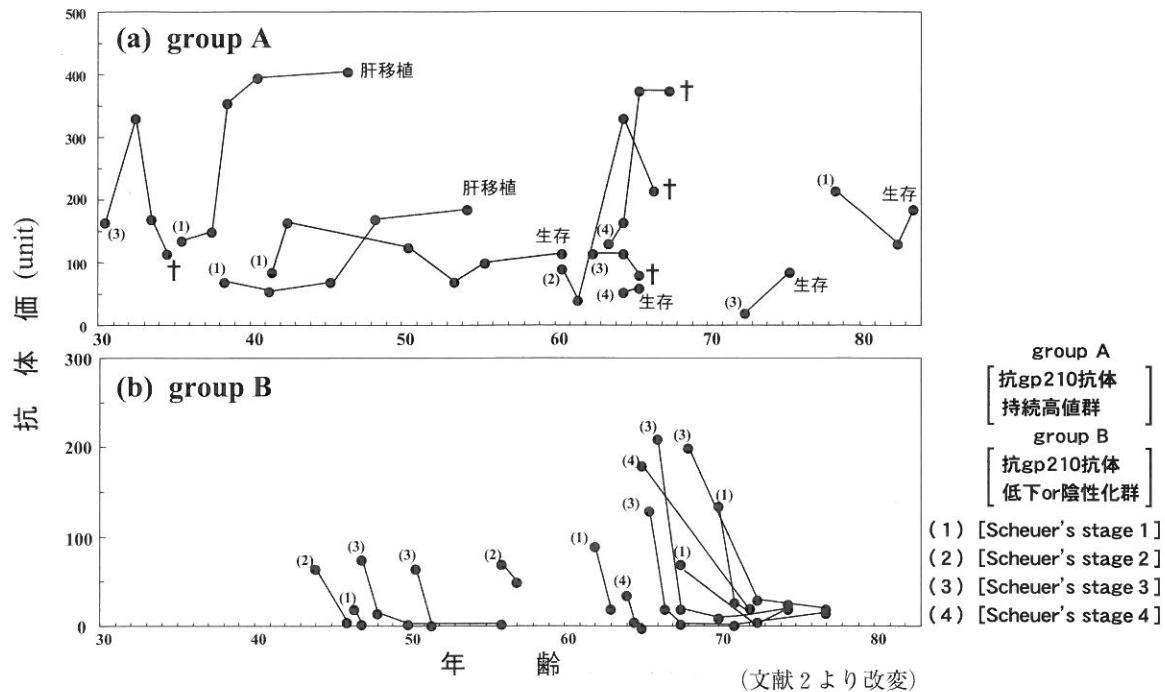


図3 PBC患者の抗gp210抗体価の経時的変化と転帰

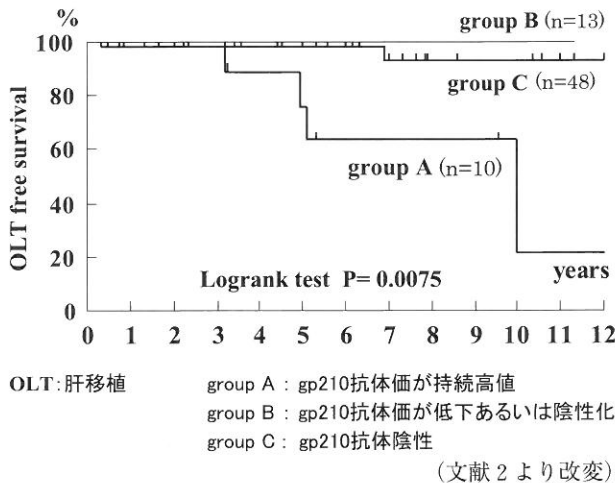


図4 PBC患者の生存率

では、抗gp210抗体が持続陽性の症例 (group A) は、経過中に陰性化した症例 (group B) や診断時より抗gp210抗体が陰性であった症例 (group C) に比べて有意に肝移植や肝不全死に至る症例の割合が多かった (図4)。以上から、抗gp210抗体の測定は、PBC患者の長期予後を予測するためのきわめて有用な血清マーカーであることが示唆された²⁾。

PBCの進行と抗核抗体

PBCの進行における抗核抗体の意義をさらに詳細に解析するために、NHOSLJに登録された276症

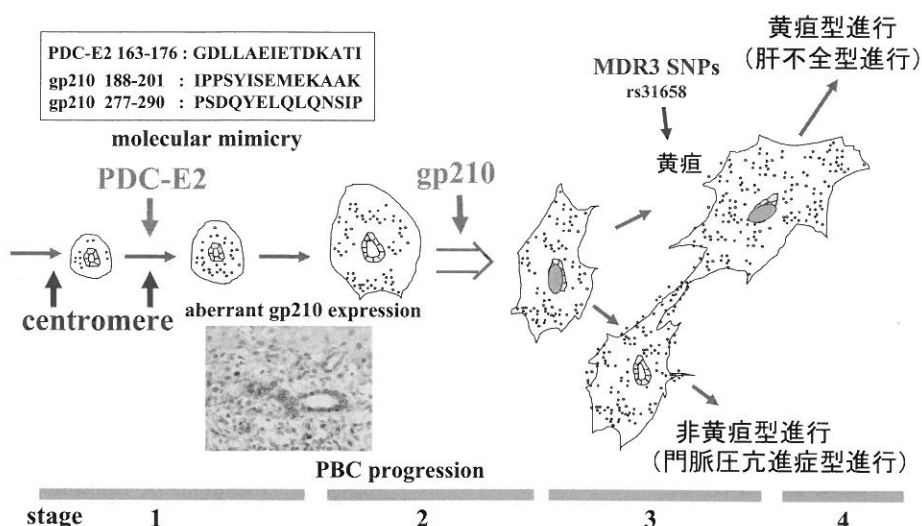
例の血清抗gp210抗体、抗セントロメア抗体、抗sp100抗体、抗クロマチン抗体を経時的に測定した¹⁾。これらの自己抗体の有無とPBCの予後についてのKaplan-Meier法による解析では、抗gp210抗体陽性群は陰性群に比べて有意に肝不全死、肝移植に至った症例が多かったが、抗sp100抗体、抗セントロメア抗体、抗クロマチン抗体の陽性群、陰性群の間には、転帰に有意差を認めなかった¹⁾。

次に、観察開始時に早期 (Scheuer's stage 1, 2) であった217症例について、進行のエンドポイントを胃食道静脈瘤の出現 (門脈圧亢進症型進行 or 非黄疸型進行)、黄疸・肝不全の出現 (肝不全型進行 or 黄疸型進行) に分けて解析を行ったところ、抗gp210抗体陽性は肝不全型進行の強い危険因子であり、抗セントロメア抗体陽性は門脈圧亢進症型 (または非黄疸型) 進行の有意な危険因子であることが明らかとなった (表2)¹⁾。また、病理学的には、抗gp210抗体陽性は病理学的活動性の指標とされる限界板の破壊 (interface hepatitis) あるいは肝小葉内炎症 (lobular inflammation) の有意な危険因子であり、抗セントロメア抗体陽性は細胆管—小葉間胆管の増殖反応 (ductular reaction) の有意な危険因子であった¹⁾。

表2 原発性胆汁性肝硬変の進行に対する危険因子 (n=217)

因子	Odds ratio (95% confidence interval)		
	全	門脈圧亢進症 (非黄疸型)	肝不全 (黄疸型)
性, 男	-	-	-
年齢 (one year ¹)	-	1.08 (1.01-1.16)	-
抗gp210 抗体陽性	7.09 (2.65-20.21)	-	33.78 (5.93-636.75)
抗セントロメア抗体陽性	4.49 (1.66-12.78)	4.20 (1.31-14.76)	-
抗sp100 抗体陽性	-	-	-
抗クロマチン抗体陽性	-	-	-

(unconditional step-wise logistic regression analysis)
(文献1より改変)



(文献1,2,3,4,5,6より改変)

図5 PBCの進行仮説

PBCの病型分類と進行仮説

以上のことから、PBCは比較的急速に進行し肝不全、肝移植に至る抗gp210抗体陽性群、比較的緩徐に進行し門脈圧亢進症に至る抗セントロメア抗体陽性群、および長期経過観察でもほとんど進行しない非進行群の3群に分類されることが示唆された¹⁾³⁾。また、肝生検組織におけるgp210蛋白の局在を、gp210-C末に対するマウスモノクローナル抗体を作製し、免疫染色にて検討したところ、核膜のgp210の染色性は、PBCだけでなく、自己免疫性肝炎やウイルス肝炎においても門脈域の炎症細胞に囲まれた小葉間胆管細胞において亢進しており、炎症を介した何らかの機序によりgp210の発現に変化が生じていることが推測された⁵⁾。

われわれは現在、図5に示すような進行仮説を提唱している³⁾。①PDC-E2に対する免疫寛容の破綻は発症早期に生じ、門脈域の炎症細胞浸潤の持続に必須であるが、それだけではstage3, 4への進行には不十分である。②stage3, 4への進行にはgp210に対する免疫寛容の破綻が必要であり、とくに黄疸、肝不全への進行にはgp210に対する免疫寛容の破綻が不可欠である。③PDC-E2に対する免疫寛容の破綻からgp210に対する免疫寛容の破綻に至る過程 (intermolecular epitope spreading) で、分子擬態 (molecular mimicry) や小葉間胆管細胞におけるgp210抗原の発現の変化 (aberrant expression) が重要な役割を果たしている可能性がある。④セントロメアに対する免疫寛容の破綻はPBCの発症早期に生じており、抗セントロメア抗体陽性群

では発症早期に将来の stage 3, 4 への進行のリスクが規定されている。

また、最近われわれは、黄疸、肝不全への進行に Multidrug resistance protein 3 (MDR 3/ABCB 4) の遺伝子多型 (SNPs) が関与していることも明らかにした⁶⁾。

おわりに

抗 gp210 抗体は PBC の病理学的活動性を反映する血清マーカーであり、その出現は、PBC における胆管障害、さらには肝硬変、肝不全への進展の重要な危険因子であることを明らかにした。血清抗 gp210 抗体の陽性化は、PBC の病理学的活動性とも相関しており、gp210 蛋白に対する免疫応答が PBC の胆管障害、さらには肝硬変、肝不全への進展に重要な役割を果たしていることが推定される。一方、抗セントロメア抗体の出現は、門脈圧亢進症への進行の危険因子であることが判明した。病型の違いにより異なる自己抗体が陽性となる現象は、病型により標的となる自己抗原や自己抗原の提示機構が異なることを示唆しており、PBC の病因を考える上できわめて興味深い現象と思われる。今後は、病型分類に基づく血清および遺伝子バイオマーカーの探索と同時に、これらの自己抗原に対する免疫寛容の破綻機構の解析をすすめる必要がある。

謝 辞

本研究は、国立病院機構政策医療肝疾患共同研究グループ (NHOSLJ) ・PBC 研究班の共同研究として平成15年度から行われているものです。以下の参加25施設の担当の先生方に深謝致します。

参加施設：国立病院機構・長崎医療センター、大阪医療センター、九州医療センター、東京病院、呉医療センター、小倉医療センター、大分医療センター、

仙台医療センター、西埼玉中央病院、東京医療センター、災害医療センター、横浜医療センター、相模原病院、まつもと医療センター松本病院、金沢医療センター、名古屋医療センター、京都医療センター、岡山医療センター、東広島医療センター、嬉野医療センター、熊本医療センター、別府医療センター、米子医療センター、西札幌病院、国立国際医療センター国府台病院

[文献]

- 1) 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 : 118-27.
- 2) Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y et al. Antibody titer to gp210-C terminal peptide as a clinical parameter for monitoring primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2005 ; 42 : 386-92.
- 3) Nakamura M, Komori A, Ito M et al. Predictive role of anti-gp210 and anti-centromere antibodies in long-term outcome of primary biliary cirrhosis. *Hepatology Research* 2007 ; 37 : S412-19.
- 4) Shimoda S, Nakamura M, Ishibashi H et al. Molecular mimicry of mitochondrial and nuclear autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 2003 ; 124 : 1915-25.
- 5) Nakamura M, Takii Y, Ito M et al. Increased expression of nuclear envelope gp 210 antigen in small bile ducts in primary biliary cirrhosis. *J. Autoimmunity* 2006 ; 26 : 138-45.
- 6) Ohishi Y, Nakamura M, Iio N et al. Single-nucleotide polymorphism analysis of the multidrug resistance protein 3 gene for the detection of clinical progression in Japanese patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2008 ; 48 : 853-62.