3．本論

1）成人慢性肝炎における非A非B型及びB型の組織学的相違点

A）対象と方法

本大学消化器内科グループ（主任：大菅俊明教授）並びに相川内科医院（院長：相川達也先生）において、血清トランスアミナーゼが正常上限の2.5倍以上の値を示し、肝機能障害が6カ月以上持続した症例で、肝生検により慢性肝炎または肝硬変と診断された264例を対象とした。血中ＨＢｓ抗原陽性もしくは血中ＨＢｃ抗体強陽性の症例を慢性B型肝炎と診断し、これらのマーカーが陰性で、代謝性疾患、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、脂肪肝、アルコール性肝障害が肝病理所見から否定されたものを慢性非A非B型肝炎と診断した。また、習慣性のアルコール摂取歴がみられる症例は対象から除外した。症例内訳はTable II－1のとおりである。非A非B型群の26.5%（39例）とB型群の3.4%（4例）に輸血の既往歴がみられた。生検肝組織はヘマトキシリンエオジン染色、マッソントリクローム染色、鍍銀染色、ＰＡＳ染色、ジアスターゼ処理ＰＡＳ染色、志方染色並びにビクトリアブルー染色で染色し、門脈域、門脈周囲域、小葉内に分けて検討した。Knodellら[168]の方法を参考にして、門脈域の細胞浸潤、限界板の破壊、小葉内の炎症及び線維化の4項目を以下の基準（Histology Activity Index;HAI)で評価、点数付けし、その合計をＨＡＩ総点とした。線維化の各段階ごとに非A非B型群とB型群の組織像の相

Table II-1　対　　象

	非A非B型群		B型群	
	慢性肝炎	肝硬変	慢性肝炎	肝硬変
男 年齢（歳）：範囲,（平均）	104 17-68(43.4)	14 38-63(48.5)	86 20-63(35.0)	17 20-60(36.4)
女 年齢（歳）：範囲,（平均）	26 32-70(49.2)	3 42-63(51.7)	13 20-58(33.5)	1 21(21)
計	130	17	99	18

達点を検討した。線維化の各段階をFig. II-1に示した。

門脈域の細胞浸潤

0：明らかな細胞浸潤が認められない。

1：軽度の細胞浸潤が認められる。

2：強い細胞浸潤が認められるが、リンパ濾胞の形成は認められない。

3：一部の門脈域にリンパ濾胞が認められる。

4：ほぼ全ての門脈域にリンパ濾胞が認められる。

限界板の破壊

0：明らかな限界板の破壊が認められない。

1：門脈域全周の1／3以下の範囲で限界板の破壊が認められる。

2：門脈域全周の1／3から2／3の範囲で限界板の破壊が認められる。

3：門脈域全周の2／3以上の範囲で限界板の破壊が認められる。

4：架橋壊死が認められる。

小葉内の炎症

0：明らかな小葉内の壊死炎症反応は認められない。

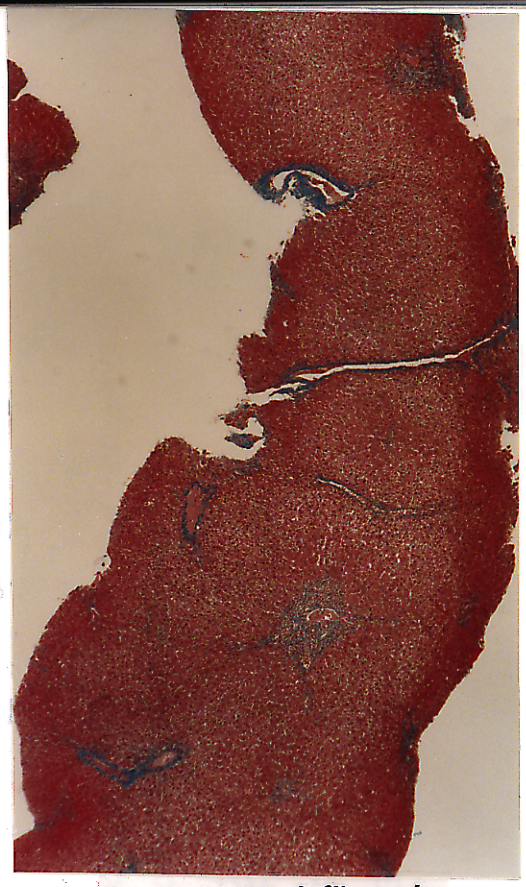
1：軽度の小葉内の壊死炎症反応が認められる。

2：肝小葉の1／3以下の範囲で壊死炎症反応が見られる。

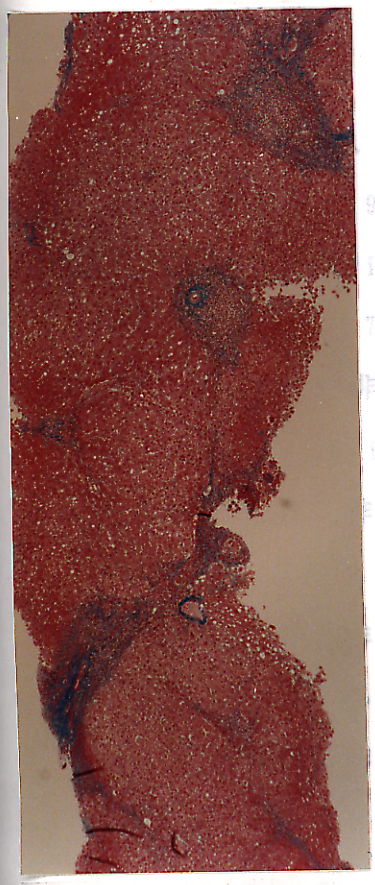
3：肝小葉の1／3から2／3の範囲にかけて壊死炎症反応が見られる。

4：肝小葉の2／3以上の範囲で壊死炎症反応が見られる。

0 : no fibrosis

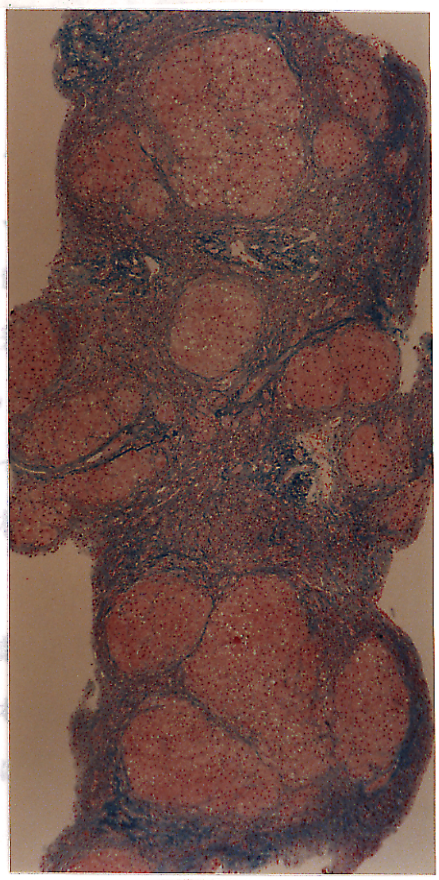


1 : periportal fibrosis



2 : bridging fibrosis

3 : precirrhotic fibrosis



4 : cirrhosis

Fig. II-1　線維化の各段階の組織像
（マッソントリクローム染色、10倍）

線維化

0：明らかな線維化は認められない（no fibrosis）。

1：門脈周囲域に線維化が認められるが bridging fibrosis は認められない(periportal fibrosis)。

2：Bridging fibrosis が認められるが再生結節は認められない（bridging fibrosis）。

3：再生結節が一部に認められるが、肝硬変とは診断されない（precirrhotic fibrosis）。

4：肝硬変（cirrhosis）。

B）結果

非A非B型群、B型群の線維化の進行の内訳はそれぞれno fibrosis 21例、9例、periportal fibrosis 64例、36例、bridging fibrosis 35例、43例、precirrhotic fibrosis 10例、11例、cirrhosis 17例、18例であり両群間に大きな差はみられなかった(Fig.II-2)が非A非B型群ではperiportal fibrosisの症例が、B型群ではbridging fibrosisの症例が最も多かった。年齢分布から検討すると、非A非B型群では加齢と線維化が相関する傾向がみられたが、B型群では若年でもかなり線維化の進行した症例がめだった。例えば非A非B型群では肝硬変の最若年は38歳であったが、B型群では20歳から肝硬変と診断された症例がみられた。

HAI総点は非A非B型群は6.8±2.7、B型群は7.6±2.9とB型群が有意に高値を示した。

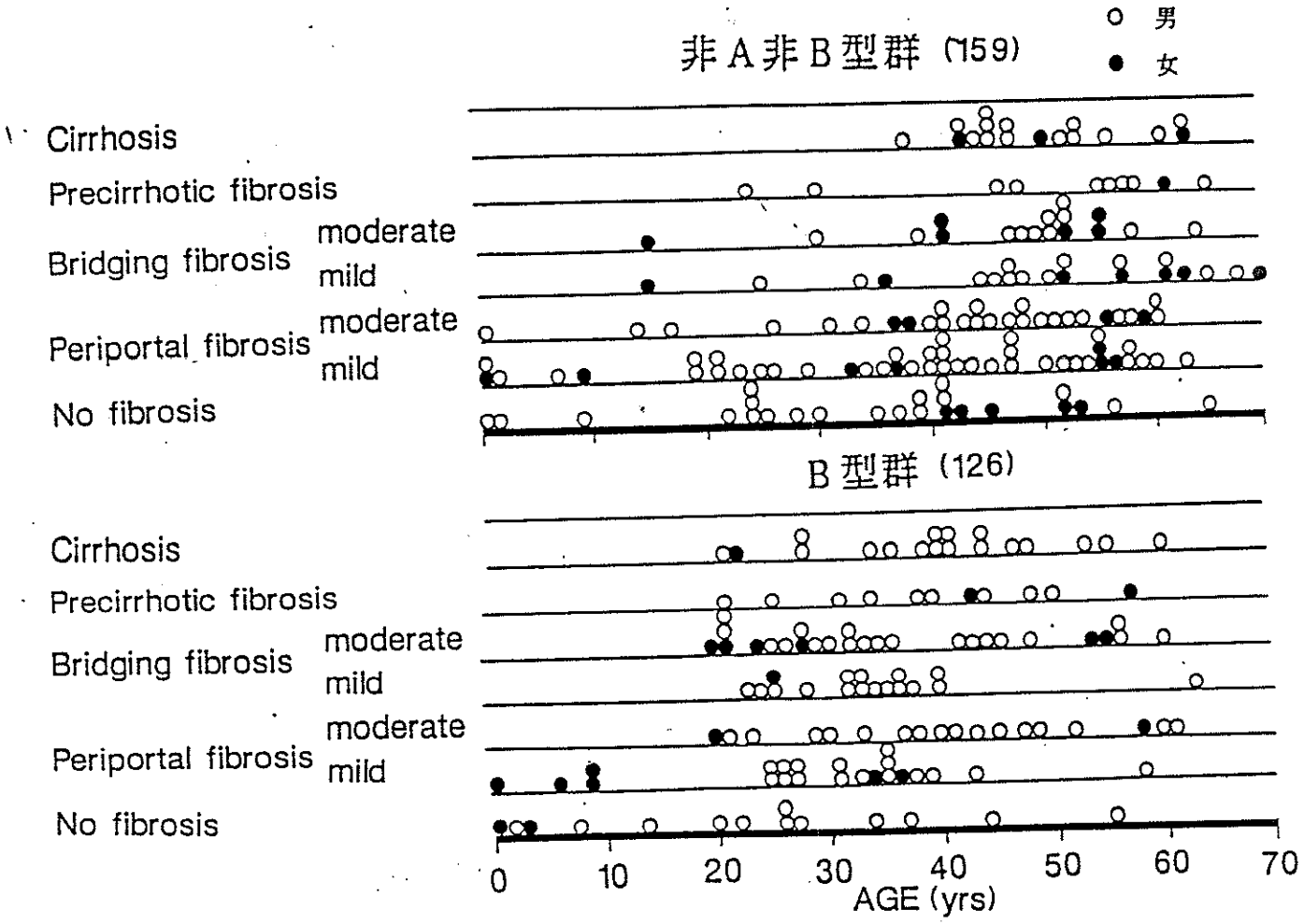


Fig. II－2 慢性非A非B型及びB型肝炎における年齢別、男女別線維化の進行度

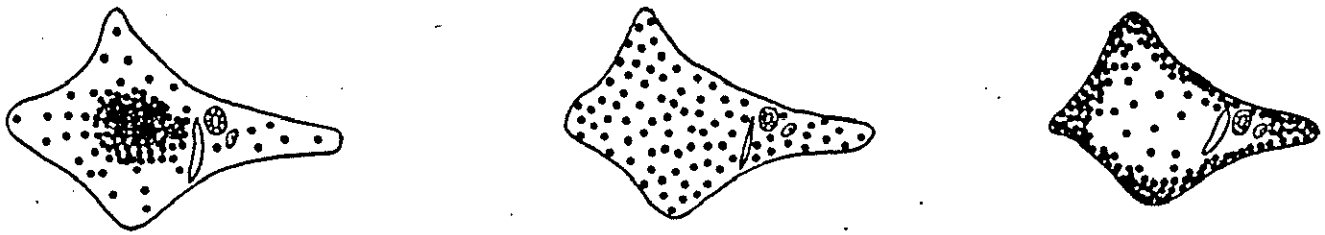
以下に組織所見の詳細を部位別に記述する。

i）門脈域

門脈域の炎症細胞浸潤が対象の大多数に認められた。非A非B型群の方がB型群より多少門脈域の炎症細胞浸潤が強い傾向がみられたが、HAI（門脈域の細胞浸潤）は非A非B型群が2.2±1.1、B型群が1.9±0.8で有意な差はみられなかった。

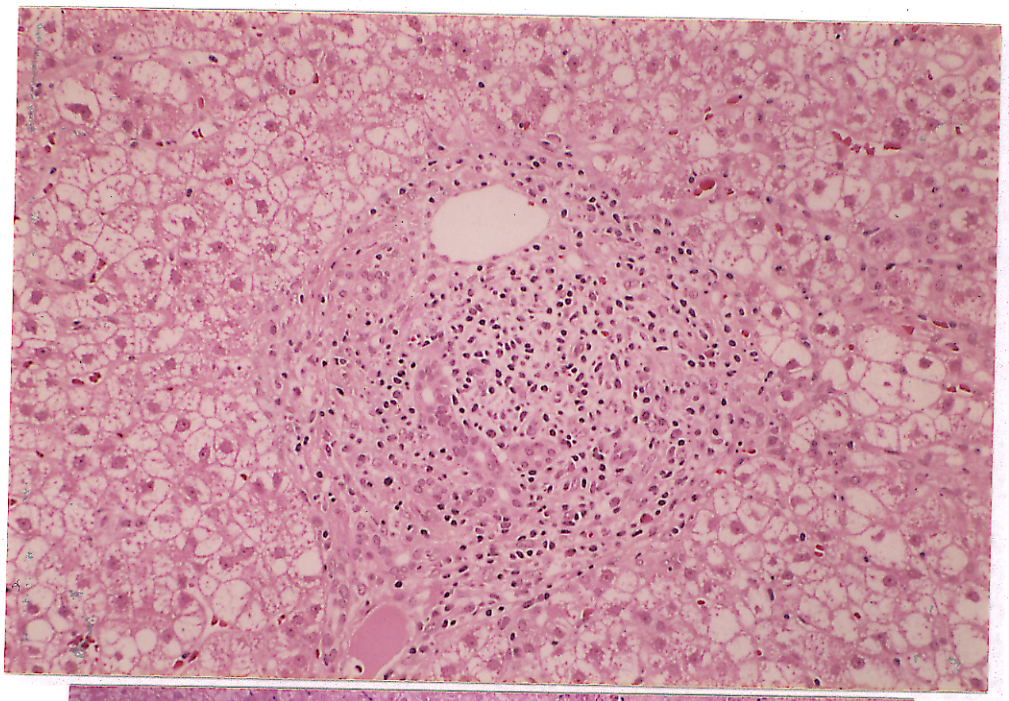
門脈域の炎症細胞の分布を門脈中心部に強い例（central dominant）、びまん性の例（diffuse distribution）、周辺に強い例（peripheral dominant）に分けて検討すると（Fig.II-3）、非A非B型群はdiffuse distributionと、B型群はperipheral dominantと分類される症例が多く認められた（Fig.II-4,5,6)。この傾向は特に線維化の進行していないno fibrosisやperiportal fibrosisの時期に顕著で、非A非B型群ではそれぞれの時期にdiffuse distributionの症例が78%、53%に、B型群ではperipheral dominantの症例が80%、75%に認められた。線維化の進行とともに非A非B型群ではcentral dominantの頻度が増加したが、B型群では常にperipheral dominantが多い傾向を示した。

門脈域は炎症細胞浸潤、線維化、浮腫、胆管増生などにより拡大している症例が多かったが、拡大した門脈域を円形拡大（round expansion)と星形拡大（starlike expansion）[176]に分類してその出現頻度を非A非B型群とB型群で比較した（Fig.II-7）。非A非B型群では円形拡大の症例が多く、B型群では星形拡大の症例が多



central dominant　　diffuse distribution　　peripheral dominant

Fig. II－3　門脈域細胞浸潤の分類



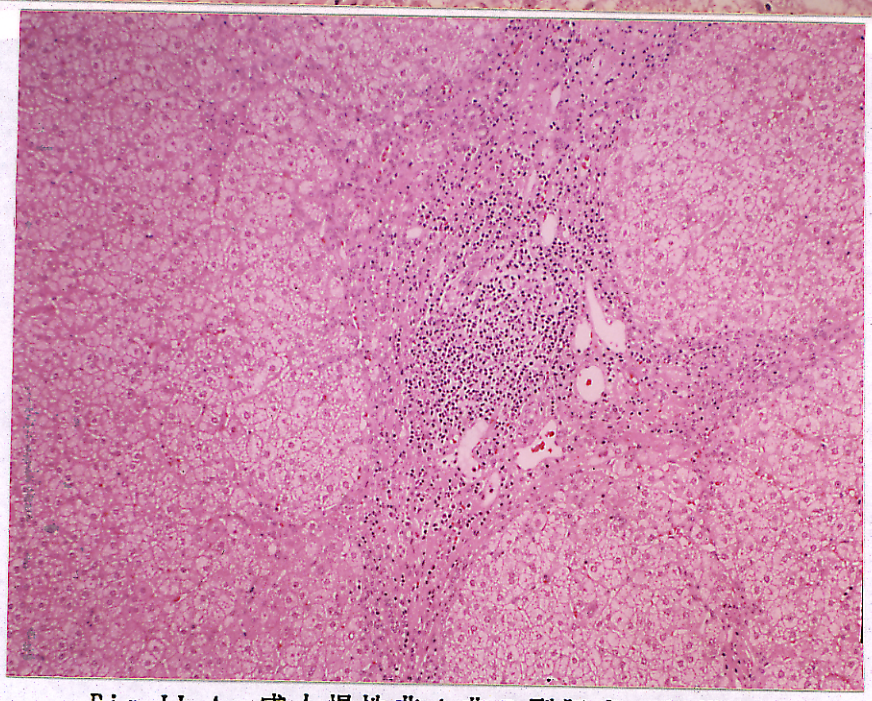


Fig. II-4　成人慢性非A非B型肝炎の組織像
（ＨＥ染色、写真上100倍、下20倍）

線維化の進行していない段階（上）の門脈域は円形でびまん性に炎症細胞浸潤がみられる。限界板の破壊はほとんどみられない。より線維化が進行した段階（下）では門脈域は星形となるが、炎症細胞浸潤は中心部に強い傾向がみられる。

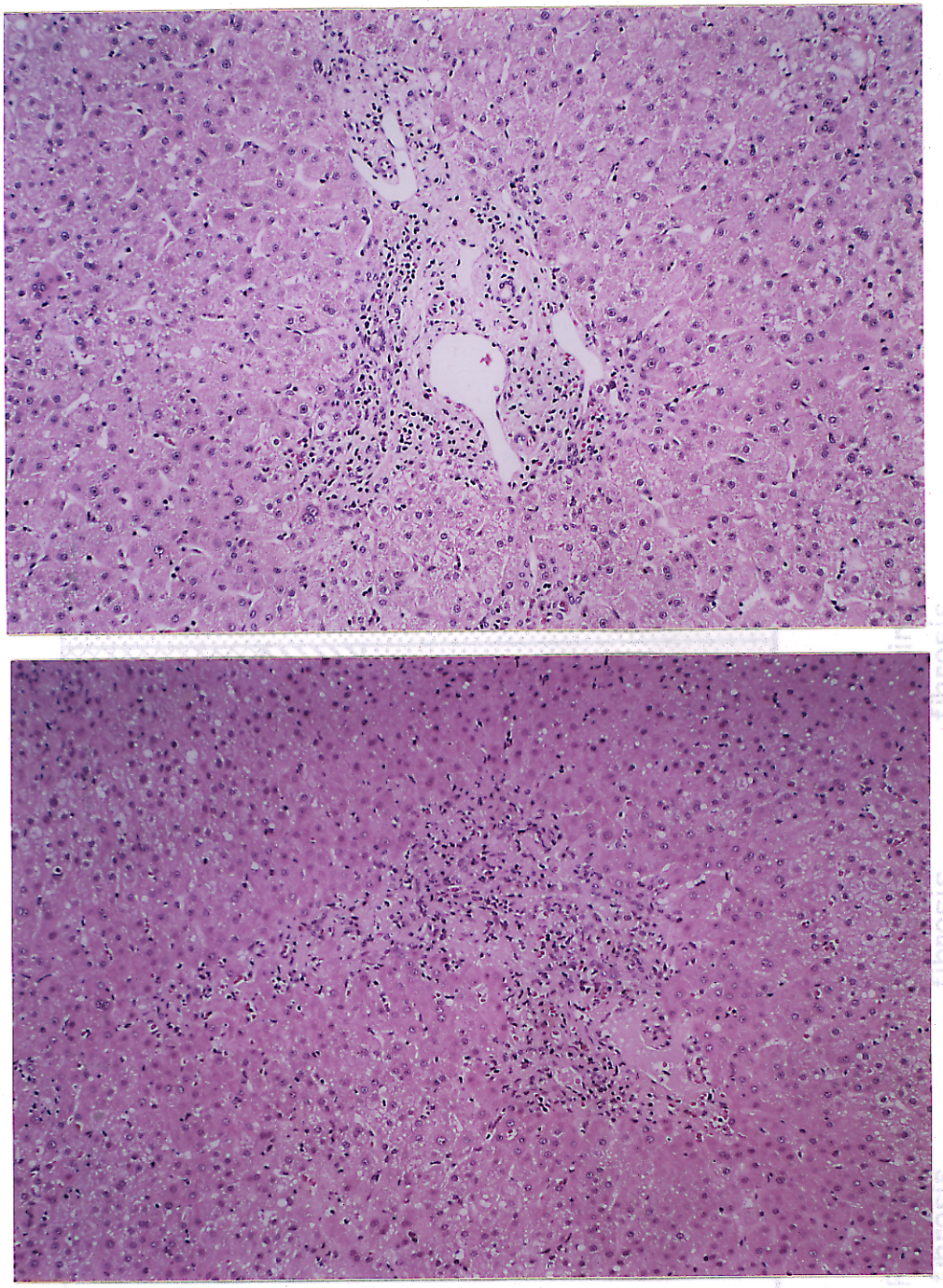


Fig. II-5　　成人慢性B型肝炎の組織像
（ＨＥ染色、40倍）

星形の門脈域で中心部よりも門脈域の周辺部に強い炎症細胞浸潤がみられる。限界板の破壊も比較的強い。

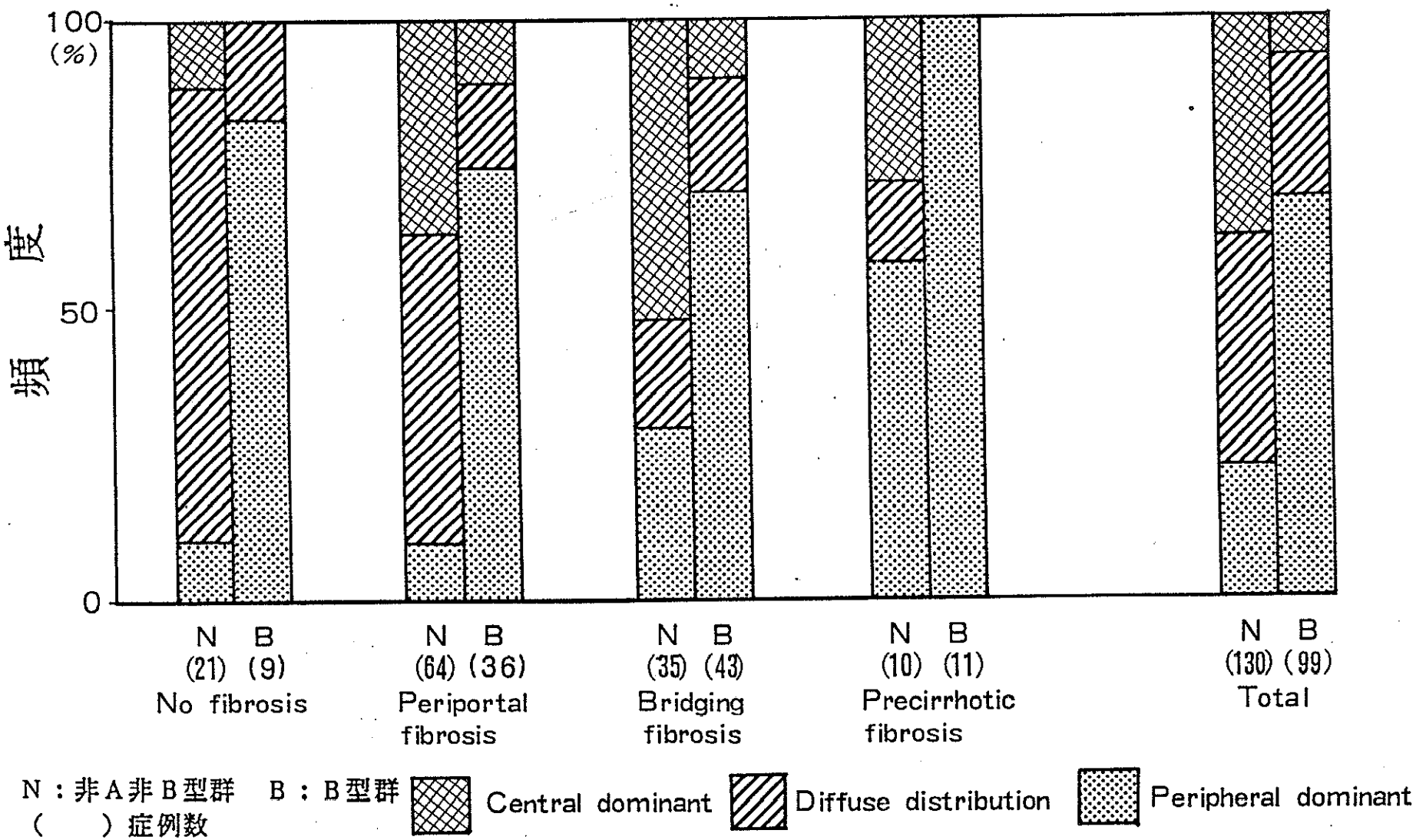


Fig. II－6 線維化の各段階における門脈域細胞浸潤の分布

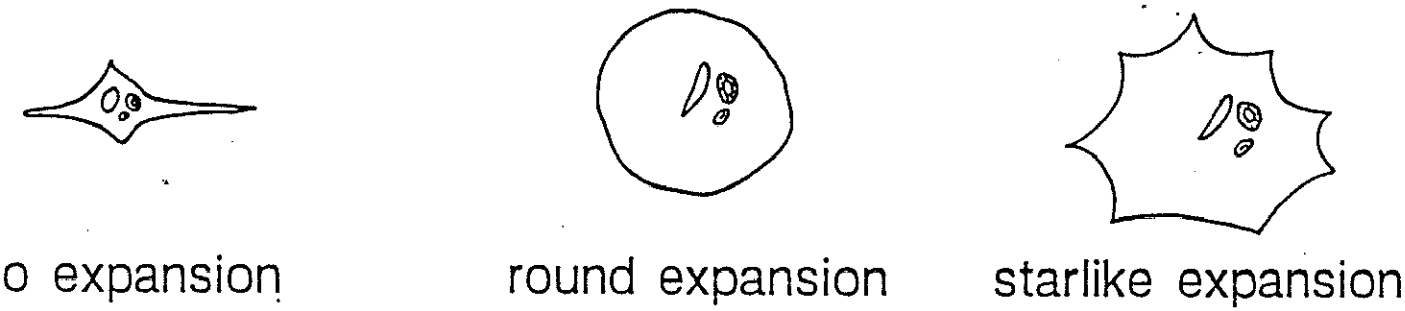


Fig. II−7　門脈域の形状の分類

かった(Fig.II-8)。この傾向は、炎症細胞浸潤の分布と同様に、線維化が進行していない症例で顕著であり、非A非B型群ではno fibrosisの77%、periportal fibrosisの55%が円形拡大を、B型群では同時期にそれぞれ67%、83%が星形拡大を示していた。

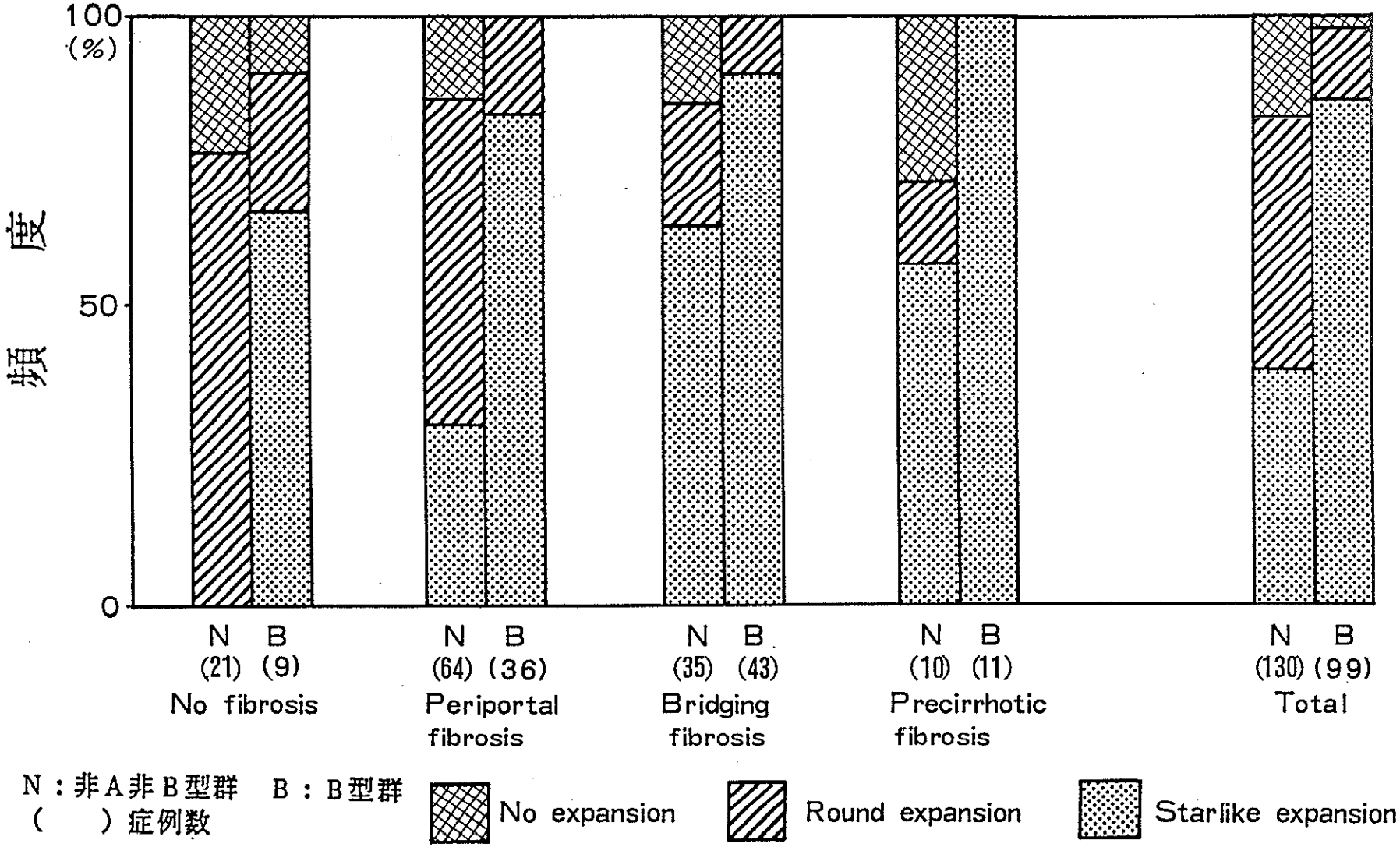
線維化の進行とともに両群ともに星形拡大の例が増加する傾向がみられた。

ii) 門脈周囲域

限界板の破壊は非A非B型群の84%、B型群の96%に認められた。Fig.II-9に非A非B型群とB型群の線維化の各段階における限界板の破壊の程度を示した。どの線維化の段階でも、非A非B型群の方が限界板の破壊が常に弱いことが判明した。HAI(限界板の破壊)を全体で評価すると非A非B型群は1.3±0.8、B型群は1.6±0.9でB型群の方が有意に高値を示した。

門脈周囲域の肝細胞周囲の線維化はbridging fibrosisの重要な指標であるが、非A非B型群の50%、B型群の36%に認められた(Fig.II-10)。線維化のパターンは両群で少し異なっていた。すなわち、非A非B型群では細い膠原線維がDisse腔に沿って肝細胞周囲性に伸びだし、その周囲の壊死炎症反応に乏しかったが、B型群の線維はより太く、脱落した肝細胞に置き代わるように沈着していた。

iii) 肝小葉内


100
(%)
50
0
頻度
N B
(21) (9)
No fibrosis
N B
(64) (36)
Periportal fibrosis
N B
(35) (43)
Bridging fibrosis
N B
(10) (11)
Precirrhotic fibrosis
N B
(130) (99)
Total
N：非A非B型群 B：B型群
( ) 症例数
No expansion
Round expansion
Starlike expansion

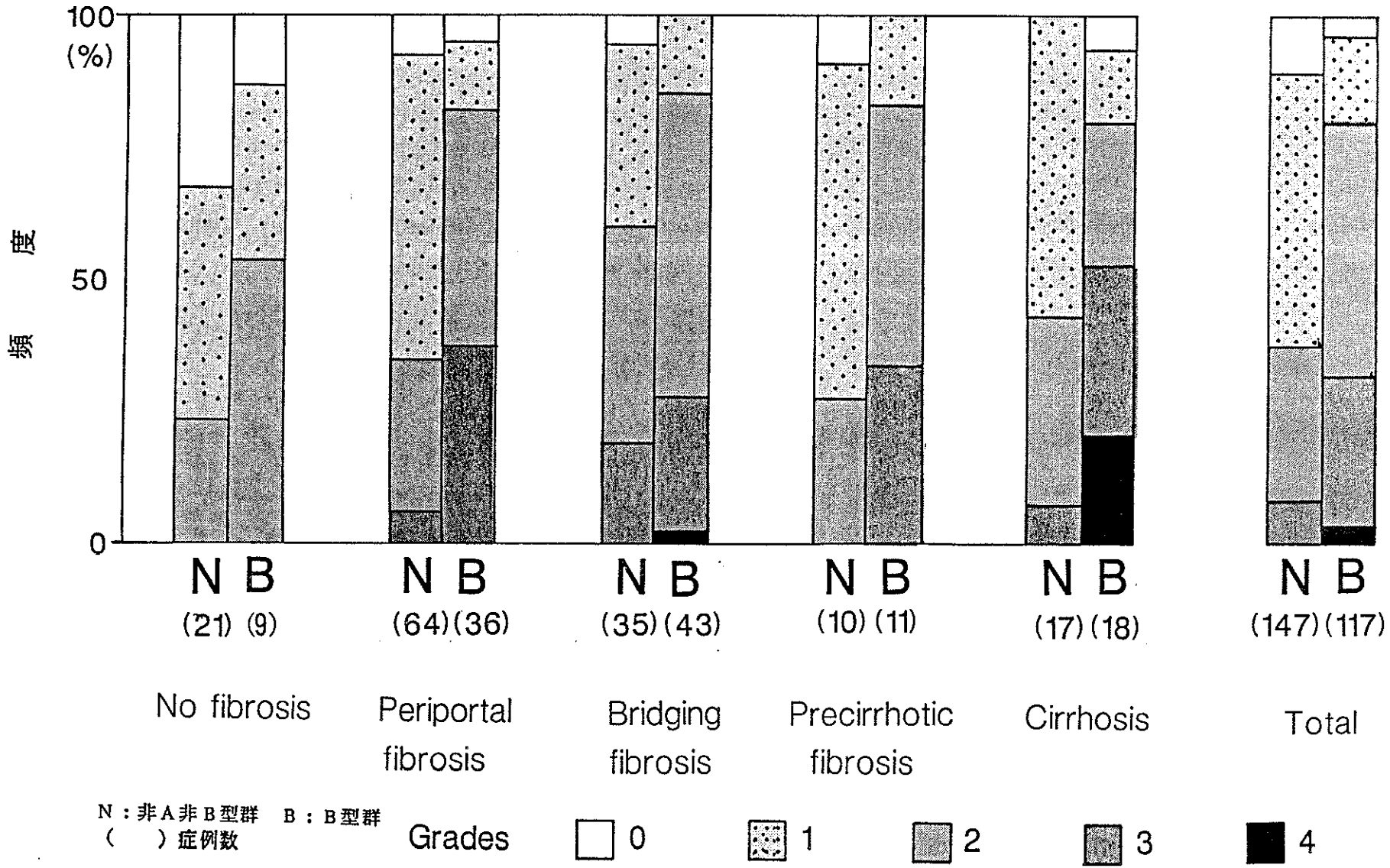
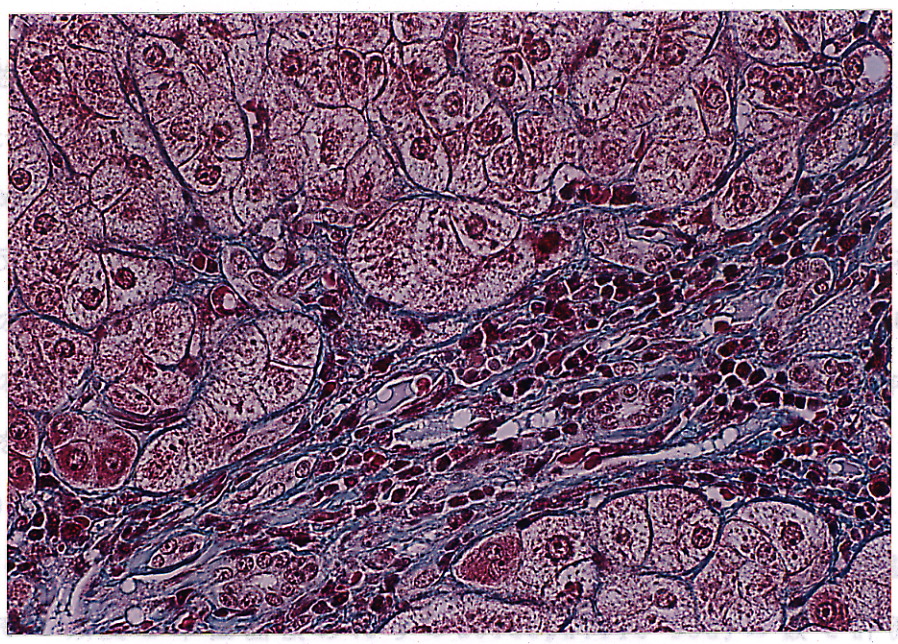


Fig. II- 9 線維化の各段階における限界板の破壊の程度



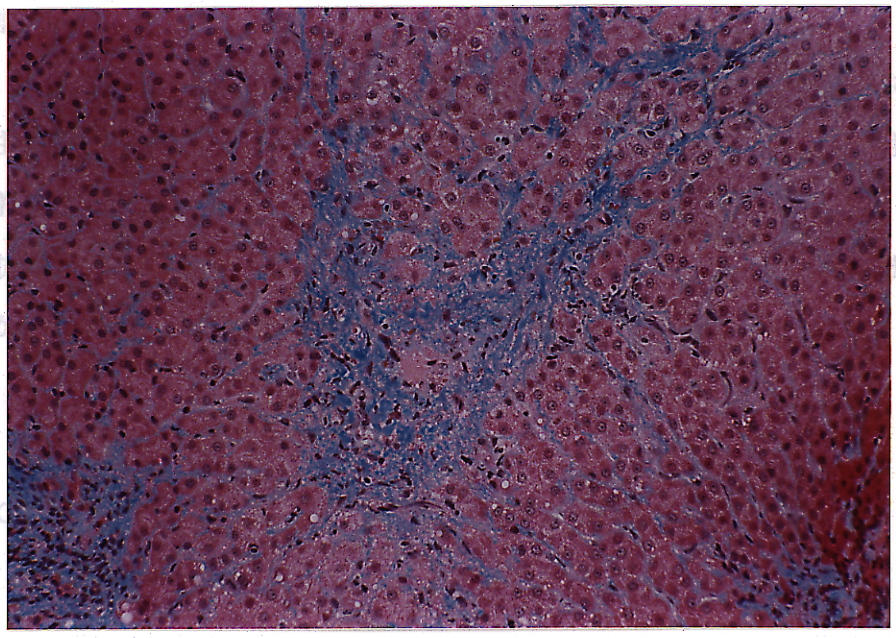


Fig. II-10　門脈周囲域の肝細胞周囲の線維化
（マッソントリクローム染色、写真上400倍、下40倍）
成人慢性非A非B型肝炎（上）の門脈周囲域の肝細胞周囲の線維化は細く類洞に伸び出している。限界板の破壊、門脈域の拡大はいずれも軽度である。これに対して成人慢性B型肝炎（下）では脱落した肝細胞に置き代わるように太い線維が増加しており、限界板の破壊、門脈域の拡大が強く認められる。

慢性肝炎ではballooning degeneration, acidophilic body, spottyまたはfocal necrosisなどの肝細胞の変性・壊死所見が全例に認められた。Fig. II-11は線維化の各段階における小葉内の壊死炎症反応の強さを非A非B型群とB型群で比較したものである。線維化の全ての段階において、非A非B型群のほうがB型群よりも小葉内の壊死炎症反応が弱い傾向が認められた。HAI（小葉内の炎症）を全体で評価すると、非A非B型群で1.4±0.7、B型群で1.9±1.0でB型群の方が有意に高値を示した。

Acidophilic bodyは非A非B型群の70%に、B型群の64%に認められ、その頻度を単位面積あたりのacidophilic bodyの数で計測したが両群の間に明らかな差は見られなかった。

Bridging fibrosisは非A非B型群の23%に、B型群の35%にみられ、主に門脈域を結ぶ形で小葉内を仕切っていたが、時に門脈域と中心静脈を結ぶものもみられた。

脂肪変性は非A非B群の40%、B群の43%に認められ、その頻度に明らかな差はみられなかった。

C）考察

これまでの慢性非A非B型肝炎と慢性B型肝炎を比較した報告は、全て、慢性肝炎の初期のものから、かなり線維化の進行したものまでをひとまとめにして比較していた。しかし、慢性肝炎と肝硬変とではその組織像が大きく異なり、特に、炎症の程度、部位、門脈域

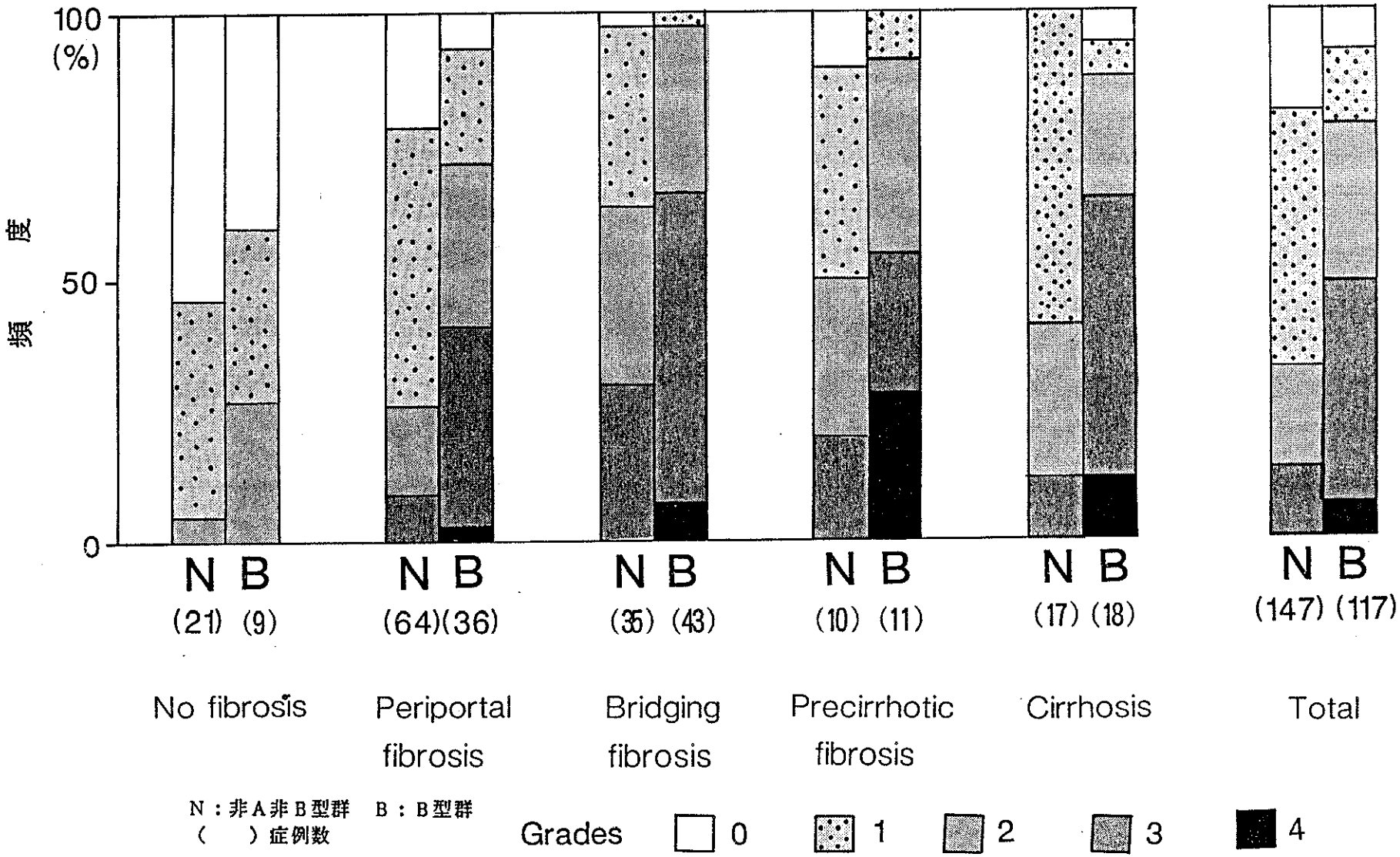
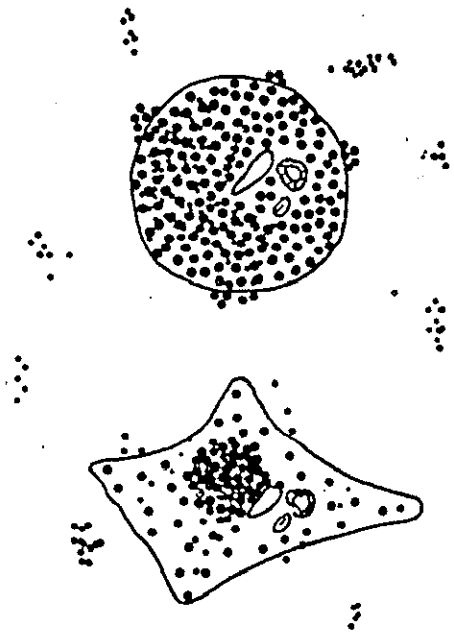


Fig. Ⅱ-11 線維化の各段階における小葉内炎症所見の程度

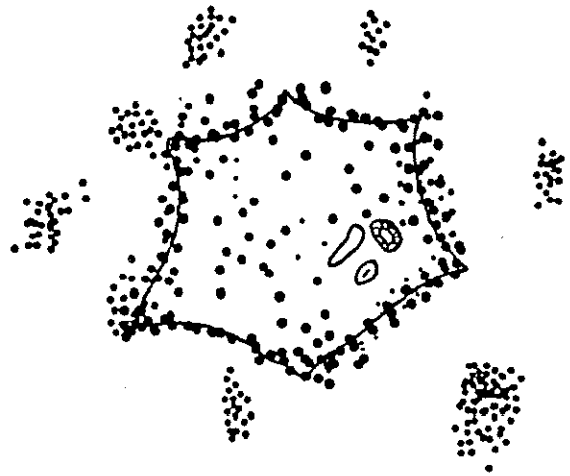
の形状で初期の慢性肝炎とかなり進行した慢性肝炎とでは異なると考えられる。よって、両型の慢性肝炎の組織像を比較検討するためには、線維化の進行度のある程度等しいもの同志で行なう必要がある。また、慢性肝炎の中には急速に肝硬変へ移行するものから、長期にわたって線維化の進行しないものまで症例により様々であるので、進行の程度は慢性肝炎の発症からの時間で考えるべきではなく、線維化の程度から判断するべきである。そこで筆者はできるだけ両型の線維化の進行度を等しくして組織像を比較検討するため、対象を線維化の進行度によって5群に分け、それぞれの段階ごとに組織学的特徴を比較検討した。

門脈域の炎症細胞の分布と拡大した門脈域の形状には両群間で明らかな相違が認められ、非A非B型群では、線維化の初期には、炎症細胞の浸潤はびまん性で、門脈域は円形拡大を呈していたが、線維化の進行とともに炎症細胞は中心部または周辺部に限局する傾向がみられ、門脈域も星形拡大を呈するようになった。一方、B型群では線維化の進行にかかわらず、常に炎症細胞は周辺部に多くみられ、門脈域は星形拡大を呈する傾向がみられた(Fig.II-12)。以上のことから、拡大した門脈の形状はその炎症細胞の分布と因果関係があるように思われた。すなわち、非A非B型群では線維化の初期には炎症が門脈域に限局する傾向があるのに対し、B型群では炎症が門脈周辺に波及する傾向があると考えられた。事実、今回の検索でも非A非B型群の方が限界板の破壊及び小葉内の炎症の程度がB型群に比較して弱かった。

堀内ら[83]は慢性B型肝炎と比較した場合の慢性非A非B型肝炎の組織像の特徴として、1）門脈域のくも膜状線維化及び傍肝細胞



非A非B型群



B型群

Fig. II−12 非A非B型群とB群の典型的門脈域像

性線維化が目立った、2）肝細胞の結節化傾向が弱く、壊死部と再生部との境界が不明瞭であることが多かった、3）壊死炎症反応の強い活動型や、弱い鎮静型の症例は少なく、軽ー中等度の壊死炎症反応が多かった、とその相違点が指摘されている。また、堀内ら[84]は1986年にもピクトリアブルー染色で慢性非A非B型肝炎に特徴的とされる肝細胞質内封入体を報告している。

門脈域のくも膜状線維化及び傍肝細胞性線維化は非A非B型群ではB型群に比し、繊細な線維の伸びだしがみられた。この点はPeters[177]の記載ともよく一致し、線維化の機転が非A非B型群とB型群では異なる可能性が示唆された。すなわち、非A非B型群では炎症による線維化の機転が存在するにもかかわらず肝細胞の脱落が弱いために肝細胞周囲に線維が沈着し、線維が繊細になるのに対し、B型群では脱落した肝細胞のあとに線維が沈着するためにより太い線維が形成されるものと推測された。

肝細胞の結節形成と線維化の進行とは密接な関係があり、通常、肝細胞の結節化傾向はbridging fibrosisの時期に出現し始める。その意味で、線維化の段階で分類せずに両型の慢性肝炎を比較した堀内ら[83]の結論の2）には少し無理がある。しかし、今回の検索で非A非B型群の約42%、B型群の約62%がbridging fibrosis以上の線維化の段階を示し、B型群の方がより線維化が進行している症例が多く、非A非B型群では肝細胞の結節化傾向が弱いという堀内ら[83]の報告と一致していた。

今回、非A非B型群はB型群と比較して活動性が弱く、鎮静型が多い傾向がみられたが、堀内らの報告[83]ではB型群の方が鎮静型が多いと報告しており、結果に相違がみられる。相違がみられた理

由の一つとして、施設による肝生検の適応の差が推測される。つまり、今回の検索では、血清トランスアミナーゼが正常上限の2.5倍以上まで上昇した症例を対象としたが、堀内らの施設ではＨＢウイルスの無症候性キャリアに対しても積極的に肝生検が施行されたと考えられ、そのような症例で鎮静型慢性肝炎と診断された症例が多かったものと考えられた。

今回の検索ではビクトリアブルー染色で肝細胞質内封入体がみられた症例は１例も見られず、この点でも堀内らの報告[83]と相違していた。

慢性肝炎例において臨床医が肝生検を施行する目的は、ウイルス性であることの確認と予後の推測である。予後の推測のためには、現在の線維化の段階と活動性の両者を知ることが必要である。つまり、肝硬変へ至る距離（線維化の程度）とその速度（活動性）を知ることによって、治療方針を決定することが望ましい。しかし、現在は主に活動性のみが重視されすぎている傾向があり、線維化の程度については犬山分類でも規定されていない。KnodellらのＨＡＩ[168]では線維化は門脈域の細胞浸潤、限界板の破壊、小葉内の炎症とともに合計され、活動性の指標にされている。今後、慢性肝炎の組織像の評価には活動性か非活動性かのみでなく、線維化の程度も診断に加えることが望ましいと考えられる。

Ｄ）小括

１）慢性肝炎264例を対象として、非Ａ非Ｂ型とＢ型の組織像の相違を、線維化の程度により５段階に分けて検討した。

2）門脈域の炎症細胞は非A非B型ではびまん性に、B型では門脈域辺縁部に分布する傾向が認められた。非A非B型では線維化の初期にこの傾向が著明で、線維化が進行するに従い、炎症細胞は中心性に浸潤する傾向がみられた。しかし、B型では線維化の進行に伴う変化は認められなかった。

3）門脈域は非A非B型では円形に、B型では星形に拡大する傾向がみられ、この傾向は非A非B型では線維化の初期に著明で、線維化が進行するとともに星形を呈するようになった。

4）限界板の破壊、小葉内の炎症所見は線維化のどの段階でも非A非B型の方が弱い傾向が認められた。

5）門脈周囲域の肝細胞周囲の線維化が非A非B型では繊細でDisse腔に沿って伸び出すように沈着していたが、B型ではより太く、脱落した肝細胞に置き代わるように沈着していた。

2）小児慢性肝炎における非A非B型とB型の組織学的相違点並びに成人例との比較

A）対象と方法

6ヶ月以上、血清トランスアミナーゼ値の異常が認められ、肝生検によって慢性ウイルス肝炎と診断された小児非A非B型肝炎12例（小児N群）、小児B型肝炎9例（小児B群）を対象とし、成人慢性非A非B型肝疾患147例（成人N群）、成人慢性B型肝疾患117例（成人B群）と比較した。小児の各群の内訳はTable III-1のとおりであった。輸血の既往は小児N群の1例に認められた以外にみられなかった。採取された肝組織をヘマトキシリンエオジン染色、マッソントリクローム染色、鍍銀染色、PAS染色、ジアスターゼ処理PAS染色、志方染色並びにビクトリアブルー染色で染色後、その肝組織像を観察し、以下の方法で評価した。

i）成人例と同様の基準（HAI）で対象の組織学的活動性を評価した。

ii）犬山シンポジウムの慢性肝炎の肝組織診断基準[33]に従って分類し、検討した。

統計処理はt検定を使用した。

Table III-1　対　　象

	小児非A非B型群	小児B型群
乳児	4	2
幼児	2	3
学童	6	4
計	12	9

B）結果

i）臨床像

発見の動機は黄疸・食欲不振が2例（ともに小児N群）で、その他は全て偶然の機会、または家族歴によるものであった。小児N群の1例の父親が慢性活動性非A非B型肝炎であった以外に、小児N群に肝疾患の家族歴はみられなかった。小児B群では9例中8例の家族に肝疾患がみられ、うち7例が母親、1例が父親であった。

Table III-2に21例の理学的所見及び肝機能検査所見を示した。

ii）病理組織像

対象を乳幼児と学童、小児N群と小児B群に分けて病理所見を考察すると、限界板の破壊、細胞浸潤、線維化などの門脈周囲域の変化は乳幼児群よりも学童群に強い傾向がみられ(Fig. III-1, Table III-3)、細胞浸潤は小児B群に、線維化は逆に小児N群に強い傾向がみられた。これに対して、ballooning degeneration や spotty necrosisなどの小葉内の変化は乳幼児群と学童群に明らかな差は認められず、ballooning degenerationはかえって乳幼児群のほうが強い傾向さえ観察された。

以下に肝組織の部位別所見を記載する。

Table III-2 **臨　床　像**

項　目	小児N群(12) (範囲、平均)	小児B群(9) (範囲、平均)
GOT (U)	101-840 (189)	108-923 (248)
GPT (U)	150-845 (210)	150-638 (272)
TB (mg/dl)	0.6-2.5 (0.9)	0.3-1.2 (0.6)
ALP (IU/L)	20.8-67.5(35.2)	24.6-42.8(30.5)
γGTP(IU/L)	64-205 (99)	10-78 (32)
LAP (IU/L)	389-437 (401)	222-420 (301)
肝腫大	12/12	9/9
脾腫大	1/12	0/9

＊肝機能検査値は経過中最大値を示す。

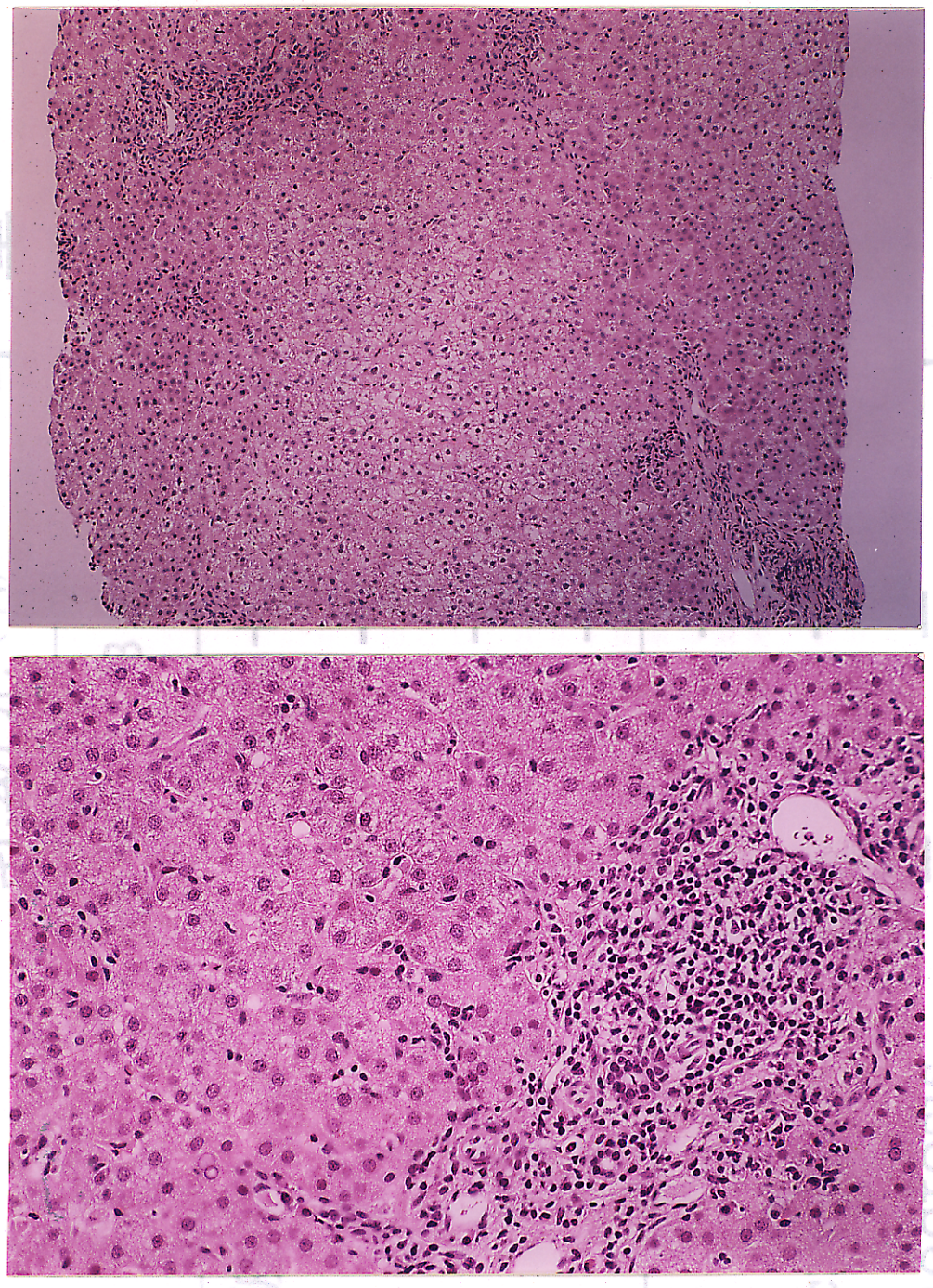


Fig. III-1　小児慢性肝炎の組織像
（ＨＥ染色、写真 上20倍、下100倍）

乳児慢性非Ａ非Ｂ型肝炎（上）では門脈域に軽度ないし中等度の炎症細胞浸潤がみられるが、限界板の破壊や小葉内のspotty necrosisは軽微である。肝細胞のballooning degenerationも認められる。これに対して学童慢性Ｂ型肝炎（下）では門脈域の炎症細胞浸潤、限界板の破壊、小葉内のspotty necrosisが比較的強く、ballooning degeneration は明らかではない。

小児慢性肝炎の組織像の特徴

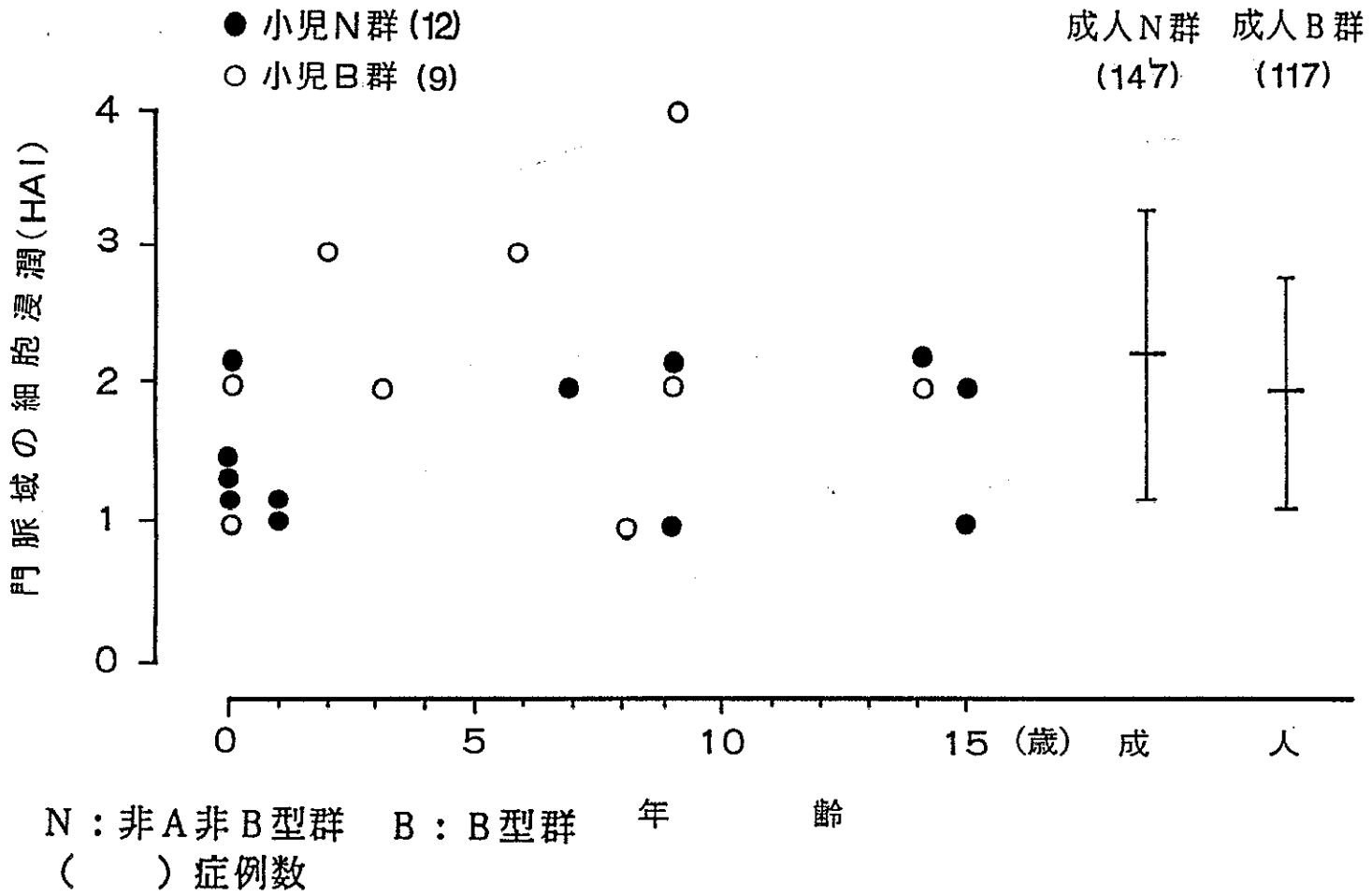
		乳幼児 (11)		学童 (10)	
		N群	B群	N群	B群
門脈(周囲)域	限界板の破壊	±	+	++	++
	細胞浸潤	+	+	++	+++
	線維化	+	+	++	+
	collapse	+	+	+	+
小葉内	ballooning	++	+	+	+
	spotty necrosis	+	++	++	++
	bridging necrosis	−	−	±	−

a）門脈域

門脈域の浸潤細胞はリンパ球が主で、一部に組織球、好酸球も認められたが、形質細胞は稀であった。2歳未満の8例は小児N群、B群にかかわりなくHAI（門脈域の細胞浸潤）が2点以下で、リンパ球の濾胞様集簇（3点以上）を示した症例は小児B群の3例のみであった(Fig.III-2)。このうち2例は肝生検後それぞれ3カ月、4カ月にseroconversionを起こし、HBe抗原の消失、HBe抗体の出現がみられた。他の1例は肝生検後3カ月経過した現在まだseroconversionは確認されていない。小児N群は成人N群に比較して門脈域の細胞浸潤が弱い傾向を示した。小児B群は2歳未満の症例で成人B群よりも門脈域の細胞浸潤が弱い傾向を示したが、2歳以上の例では明らかな差は認められなかった。成人の場合と同様に、門脈域の細胞浸潤の分布を小児例でも検討したが、全例がdiffuseに分類され、peripheral dominant や central dominant に分類される症例はみられなかった。また、門脈域の形態は星形拡大に分類されたものはなく、乳幼児例に明らかな門脈域の拡大がみられた例はなかった。

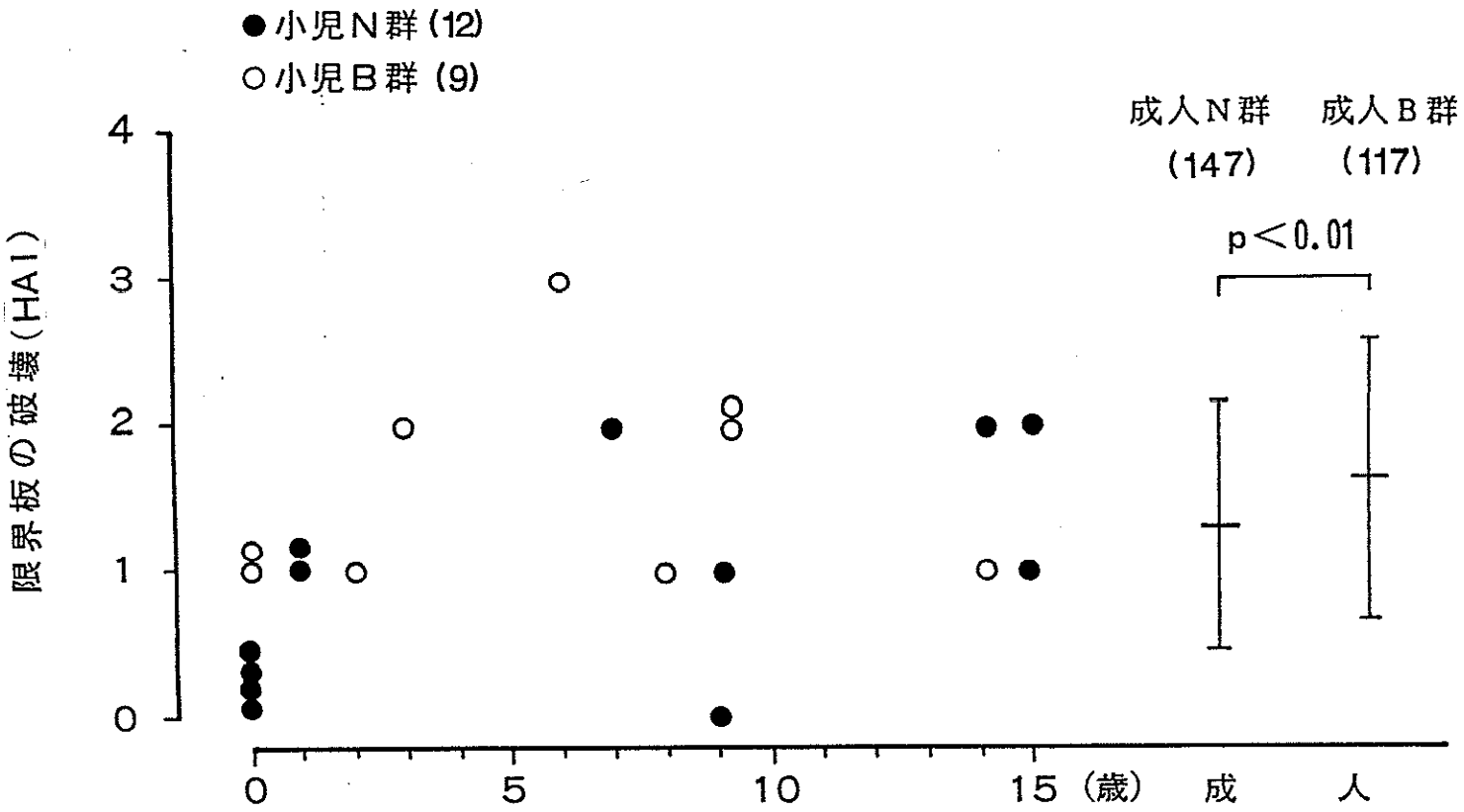
b）門脈周囲域

限界板の破壊は全般的に小児N群の方が小児B群よりも弱い傾向がみられ、小児N群12例のうち5例では明らかな限界板の破壊はみられなかった(Fig.III-3)。また、両群ともに2歳未満の症例は全例HAI（限界板の破壊）が1点以下であり、2歳以上の症例に比べて



N：非A非B型群　B：B型群
（　　）症例数

Fig. III−2 門脈域の細胞浸潤の程度とその年齢差



N：非A非B型群　B：B型群　　年　　齢
(　　)症例数

限界板の破壊が弱い傾向が認められた。

門脈周囲域の肝細胞周囲の線維化も乳児2例、学童3例の計5例のみに認められ、いずれも小児N群の症例であった(Fig.III-4,5)。

c）肝小葉内

小児B群で肝細胞のすりガラス様変化（glound glass)のみられた症例はなかった。脂肪変性がみられたのは乳児2例、学童3例の計5例で、いずれも小児N群であり(Fig.III-6)、そのうち1例では強い脂肪変性がみられた。小児例における小葉内の炎症は成人に比較してspotty necrosisやfocal necrosisが比較的弱く、hydropic hepatocyte, ballooning degeneration、acidophilic bodyなどの所見が目立つ傾向がみられた(Fig.III-1)。HAI（小葉内の炎症）3点以上の症例は3例認められ、いずれも6歳以上の症例であった(Fig.III-7)。成人と比較して小葉内の炎症の強さに明らかな差は認められなかった。

d）線維化

小児で肝硬変またはそれに近い状態(precirrhotic fibrosis)まで線維化の進行した症例はみられず、ほとんどの例が線維化がないかまたは軽度の門脈周囲域の線維化がみられる程度であり、bridging fibrosisは小児N群の学童2例で認められたのみであった。

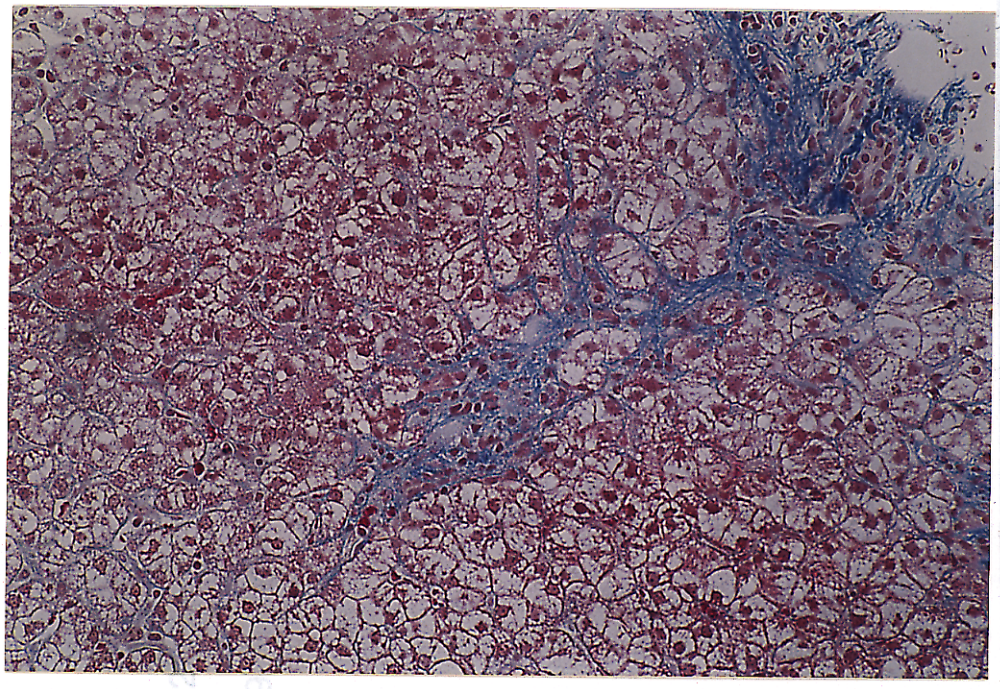
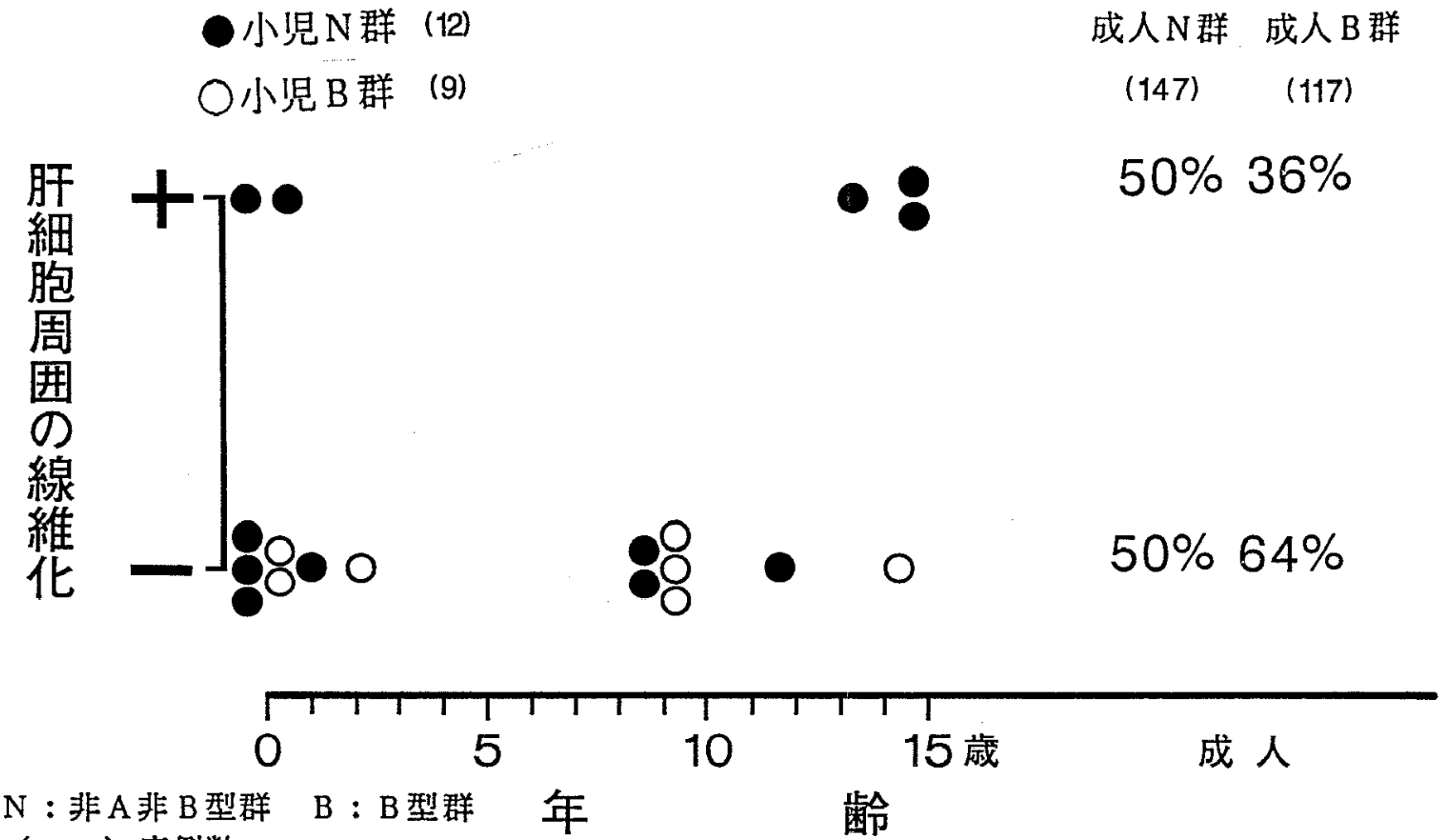


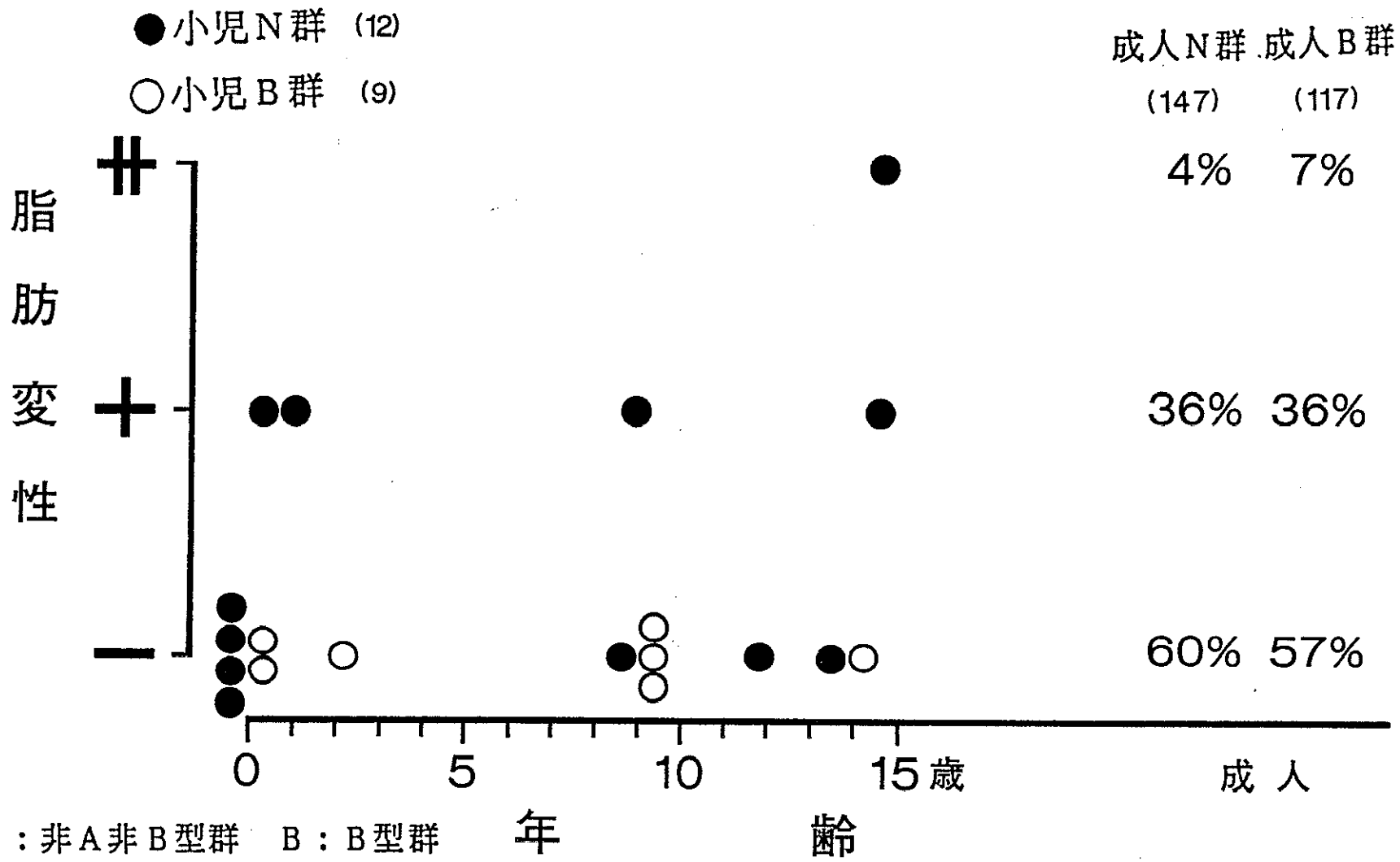
Fig. III-4　幼児慢性非A非B型肝炎の組織像
（マッソントリクローム染色）

門脈から肝小葉に伸びだすような形で肝細胞周囲の線維化がみられる。



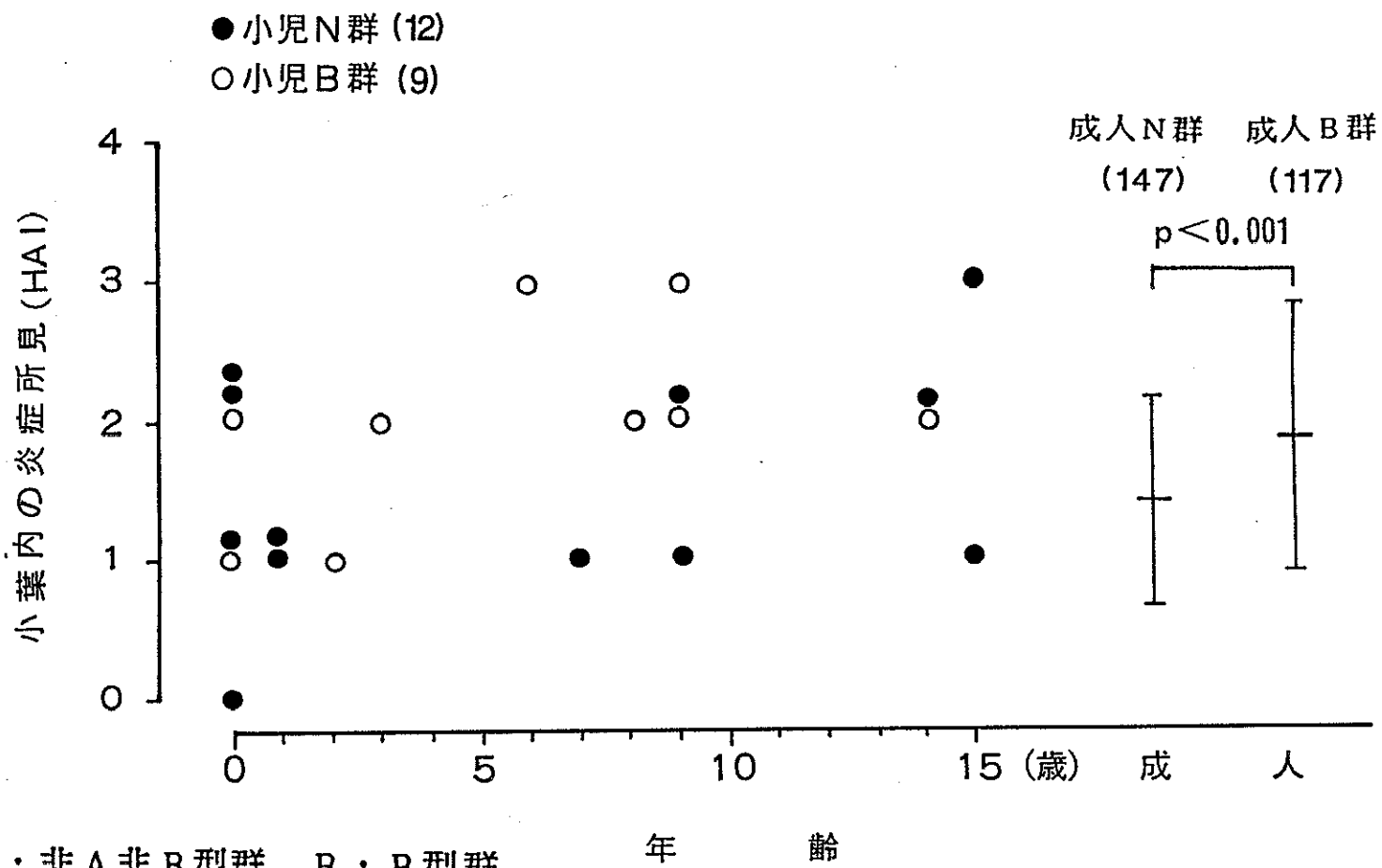
N：非A非B型群　B：B型群
（　　）症例数

Fig. III−5　肝細胞周囲の線維化の出現頻度とその年齢差



N：非A非B型群　B：B型群
（　　）症例数

Fig. III−6　脂肪変性の出現頻度とその年齢差



N：非A非B型群　B：B型群
(　　)症例数

Fig. III−7　小葉内の炎症とその年齢差

e）ＨＡＩ総点

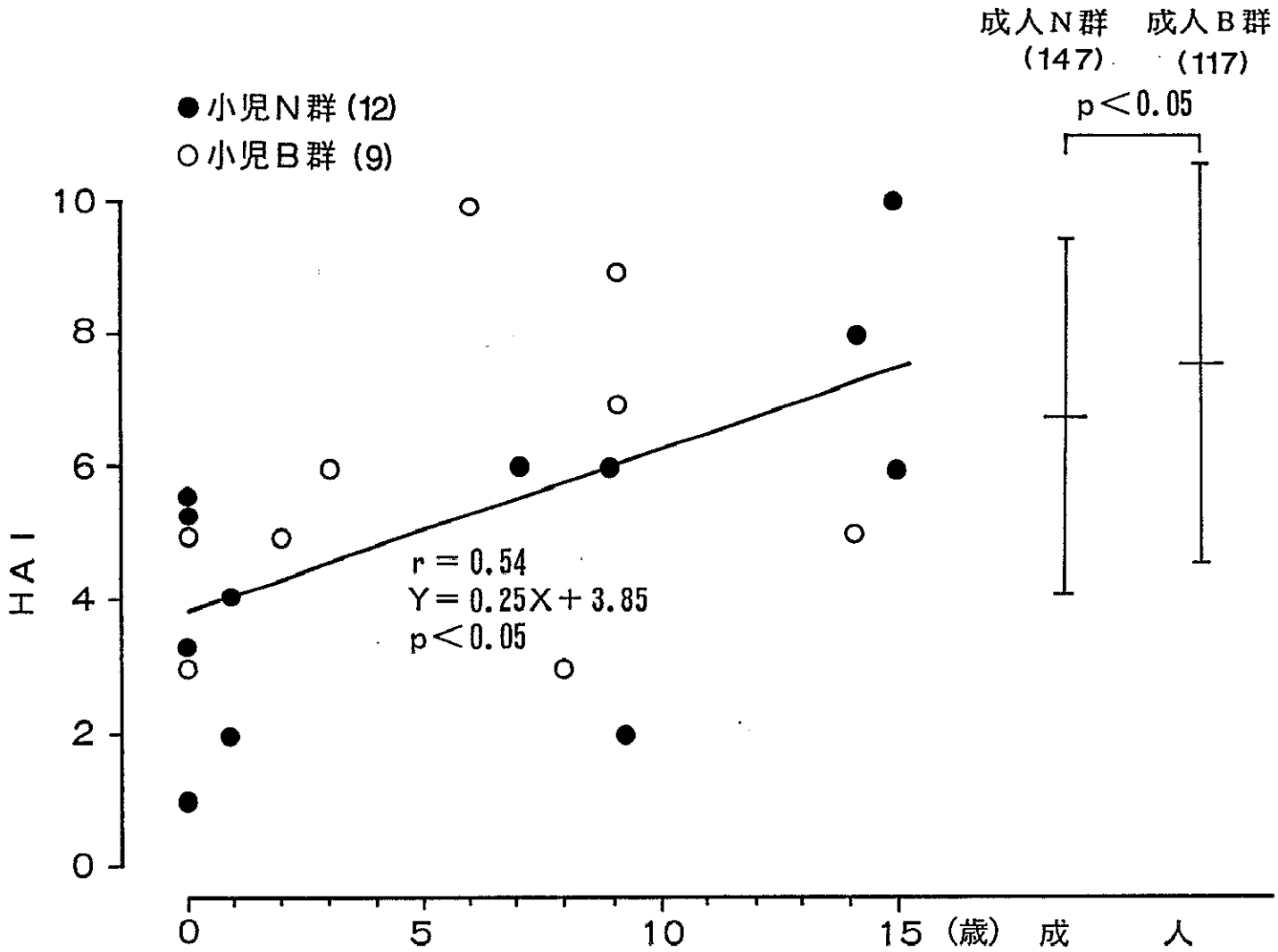
乳幼児例のＨＡＩ総点はいずれも５点以下と低く、加齢とともに高くなる傾向があり(Fig.III-8)、学童期にはほぼ成人と同様の値を示していた。小児Ｎ群と小児Ｂ群との間に明らかな差は認められなかった。

f）犬山シンポジウム診断基準による分類

犬山シンポジウム診断基準を適用すると、小児Ｎ群の25%、小児Ｂ群の55.6%が持続性肝炎と診断された。これは成人Ｎ群の13.7%、成人Ｂ群の7.3%に比較して明らかに高率であった。一方、慢性活動性肝炎の頻度は小児Ｎ群25.0%、小児Ｂ群33.3%に対し成人Ｎ群52.1%、成人Ｂ群82.3%と小児では低率であり、成人Ｂ群がもっとも高率であった。この結果を乳幼児・学童・成人にわけて検討すると、乳幼児では慢性活動性肝炎と診断された症例はなく、持続性肝炎と診断された症例が過半数を占めた。しかし、学童になるとその構成はかなり成人に近くなった(Fig.III-9)。

C）考察

一般に小児の慢性ウイルス肝炎は成人に比較して組織学的活動性が低い傾向にあり[55)178)]、特に乳幼児では門脈域の変化は細胞浸潤が主で線維化が軽度なために、犬山分類[33)]を適用すると持続性



N：非A非B型群　B：B型群
（　　）症例数

Fig. III−8　　ＨＡＩ総点とその年齢差

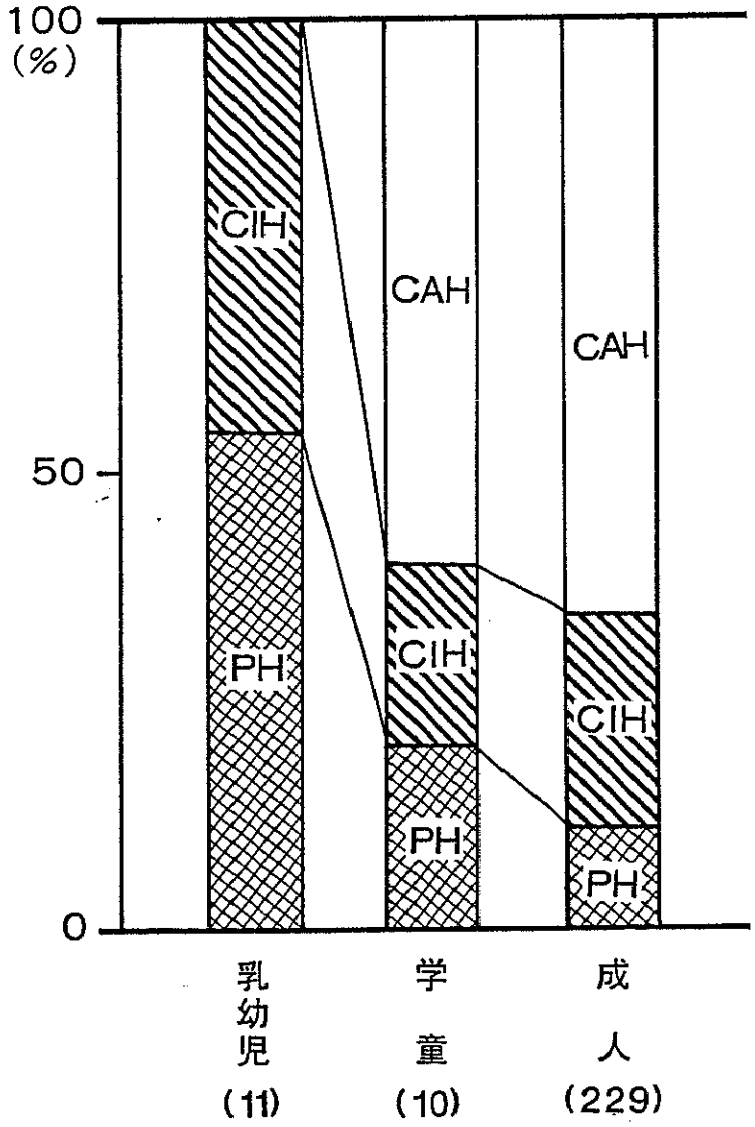


Fig. III−9　小児と成人の慢性肝炎の病型の比較

CAH：慢性活動性肝炎　CIH：慢性非活動性肝炎　PH：持続性肝炎

肝炎と診断される症例が少なくない[55]。今回、ＨＡＩ（Knodellら[168]、一部改変）を用いて検索した結果、小葉内の炎症は成人例に比較して明らかな差がみられなかったが、限界板の破壊、門脈域の細胞浸潤、線維化の程度は成人例に比較して弱い傾向が認められた。そのため、乳幼児例では犬山分類で慢性肝炎と診断されたのは11例中5例（45.5%）であり、慢性活動性肝炎と診断されたものは１例もなかった。慢性肝炎と診断されなかった６例は、犬山分類では「持続性肝炎」と診断されたが、これらの症例の中には加齢とともに組織学的活動性の強くなるものや肝硬変または前硬変状態に移行するものがある[179)-182)]ので慎重な経過観察が必要である。以上のことから、犬山分類を小児例に適用する際には慎重な配慮が必要であると思われる。

前述のように小児慢性肝炎では全体に組織学的活動性が弱い傾向を示すが、小葉内の炎症は成人例とあまり差がなく、結局、小児では門脈域よりも小葉内の炎症が目立つ傾向がみられ、小児慢性肝炎の組織像の特徴の１つと考えられた。小葉内の炎症の様相も多少成人例と異なり、spotty necrosisやfocal necrosisよりも hydropic hepatocyte, ballooning degenerationそして acidophilic body などがめだつ傾向が認められた。

成人慢性非Ａ非Ｂ型肝炎では成人慢性Ｂ型肝炎に比較して組織学的活動性が弱い傾向があるとされている[177)]が、小児例ではその差は明らかではなかった。これは組織学的活動性が全般的に低いために差がでにくいこと、小児では前述のように組織学的活動性の強さが年齢により変化するので、年齢ごとに考察するには症例数が十分ではなかったことなどが理由として考えられた。

今回、小児慢性肝炎の組織像の特徴としてその組織学的活動性が全体に弱く、加齢とともに高くなっていくことのほかに、線維化の傾向が弱いこと、形質細胞浸潤が弱いこと、B型群ですりガラス様肝細胞がみられないことなどがあげられたが、これらはKadas & Pieley[67]の結果を支持するものであり、小児慢性肝炎の組織像の特徴と考えられた。

肝細胞の脂肪変性や門脈周囲域の肝細胞周囲の線維化はともに小児N群の5例に認められ、小児B群には認められなかった。これらの相違点はすでに成人例では報告があり[30][77][80]、症例数は少ないが、小児慢性肝炎の非A非B型とB型の組織像の相違点である可能性もあり、今後、症例をふやして検討する必要があると考えられた。

D）小括

1．小児慢性非A非B型肝炎12例、B型慢性肝炎9例、成人慢性非A非B型肝疾患147例、慢性B型肝疾患117例を対象として、その肝組織の組織学的活動性を比較検討し、小児慢性肝炎における犬山分類の適用について考察した。

2．組織学的活動性は乳幼児期には弱く、加齢とともに強くなる傾向が認められた。特に、限界板の破壊、門脈域の細胞浸潤及び線維化はこの傾向が顕著であった。このため乳幼児例の過半数が犬山分類で持続性肝炎と診断された。

これら小児慢性肝炎の組織像の特殊性を考慮すると、小児に犬

山分類を適用する際には慎重な配慮が必要であると考えられた。

3．小葉内の炎症の程度は成人に比較して大差なかったが、病変の現れ方は若干異なり、spotty necrosisやfocal necrosisよりもhydropic hepatocyte, ballooning degeneration、acidophilic bodyなどが小児慢性肝炎でめだつ傾向が認められた。なお、形質細胞の浸潤が少ないこと、小児慢性B型肝炎ですりガラス様肝細胞がみられないことも小児慢性肝炎の組織像の特徴と考えられた。

4．肝細胞の脂肪変性と門脈周囲域の肝細胞周囲の線維化は小児慢性非A非B型肝炎の5例に認められたが、小児慢性B型肝炎では認められなかった。組織学的活動性は小児慢性非A非B型肝炎と小児慢性B型肝炎の間に明らかな差は認められなかった。

3）慢性肝炎の壊死炎症反応におけるＨＬＡ抗原の役割

Ａ）対象と方法

本大学消化器内科グループ（主任：大菅俊明教授）並びに相川内科医院（院長：相川達也先生）で経験され、肝生検された、成人慢性肝炎155例、小児慢性肝炎28例、正常対照として肝組織が正常の小児２例、成人８例の計193例を対象とした（Table IV-１）。肝疾患以外の原疾患で腎生検が施行された症例で、同時に肝組織も得られた症例を正常対照とした。これらの症例のパラフィン包埋肝組織ブロックを３μに薄切し、抗ヒトβ$_2$-microglobulin（β$_2$-ＭＧ）モノクローナル抗体（immunotech社製）、抗ヒトＨＬＡ－ＤＲモノクローナル抗体(Bio Genex社製)、抗ヒトＨＢｃ抗原ポリクローナル抗体（Dako社製）で染色した[183]。染色はavidin-biotin-complex(ABC)法を用いた[184][185]。方法の概要を以下に示す。

1）パラフィン包埋肝組織ブロックを約3μの厚さに薄切する。
2）脱パラフィン（キシロール、アルコール）。
3）水洗。
4）ＰＢＳで洗浄（5分間3回）。
5）メタノール150mlに過酸化水素水1mlを加えた混合液に標本を30分間浸透して内因性ペルオキシダーゼを除去する。
6）ＰＢＳで洗浄（5分間3回）。
7）プロテアーゼtype Ⅰ（Sigma社製）5mgと10mlの0.05M Tris-HCl

Table IV-1　　対　　象

	非A非B型群	B型群	正常対照
成人、男 年齢（歳）：範囲、（平均）	60 22-62(42.5)	73 22-58(34.2)	6 25-62(41.7)
成人、女 年齢（歳）：範囲、（平均）	11 32-70(48.6)	11 20-58(34.4)	2 32-56(44.0)
小児、男 年齢（歳）：範囲、（平均）	11 0-14(4.0)	7 2-14(9.0)	1 8(8)
小児、女 年齢（歳）：範囲、（平均）	4 0-15(9.8)	6 0- 9(3.9)	1 2(2)
計	86	97	10

8）ＰＢＳで洗浄（5分間3回）。

9）1%山羊血清によりbackground stainingを除去する（ＨＢｃ抗原を染色する場合は1%馬血清を使用）。

10）ＰＢＳで洗浄（5分間3回）。

11）一次抗体を標本に滴下、攪拌し湿室で4℃１晩放置。

12）ＰＢＳで洗浄（5分間3回）。

13）二次抗体を標本に滴下、攪拌し湿室で室温30分間放置。

14）ＰＢＳで洗浄（5分間3回）。

15）ＡＢＣ試薬を標本に滴下、攪拌し湿室で室温30分間放置。

16）ＰＢＳで洗浄（5分間3回）。

17）Tris-HCl緩衝液に四塩酸ジアミノベンジジン6mg，過酸化水素水3μlを加え、ペロキシダーゼ基質を作成し、標本に滴下、攪拌し、8分後に蒸留水に浸して反応を停止させる。

18）ヘマトキシリンで20秒間染色。

19）水洗。

20）アルコール、キシロールに順番に浸透して脱水する。

21）封入。

22）鏡顕。

B）結果

i）β_2-microglobulin（β_2-MG）

β_2-MGは正常対照の10例において、類洞のKupffer細胞、内皮細胞、浸潤リンパ球の細胞膜に染色されたが、隣接する肝細胞の境界は染色されなかった(Fig.IV-1)。これに対して慢性肝炎では隣接する肝細胞膜が線状に染色された。このようなβ_2-MG陽性肝細胞は非A非B型群では炎症巣の部位と関係なく、小葉内にびまん性に存在する傾向がみられたが、B型群では比較的少なく、破壊された限界板や小葉内のspotty necrosis, focal necrosis、時にbridging necrosisの近傍に存在する傾向がみられた(Fig.IV-2)、(Fig.IV-3)。また乳児ではβ_2-MGの発現している症例はみられなかった。これらの事実を数量的に表するために、10,000個の肝細胞を観察し、β_2-MG陽性肝細胞の百分率をβ_2-MG%とした。Fig.IV-4に示すように、β_2-MG%は小児例、成人例ともに、非A非B型群の方がB型群よりも高い傾向がみられた。1歳以下の症例ではβ_2-MG陽性肝細胞は確認されなかった（Fig.IV-5）が、幼児、学童と年齢が進むにつれてβ_2-MG%は高くなる傾向が示された。また、炎症の強さとの関係をみるために成人例における限界板の破壊の強さ、小葉内の炎症、門脈域の細胞浸潤の強さ（HAI）とβ_2-MG%の関係を検討すると（Fig.IV-6）、B型群では限界板の破壊、小葉内の炎症、門脈域の細胞浸潤のいずれにおいてもβ_2-MG%と正の相関が認められたが、非A非B型群では相関は明らかではなかった。この傾向は、小児例でも認められた(Fig.IV-7)。

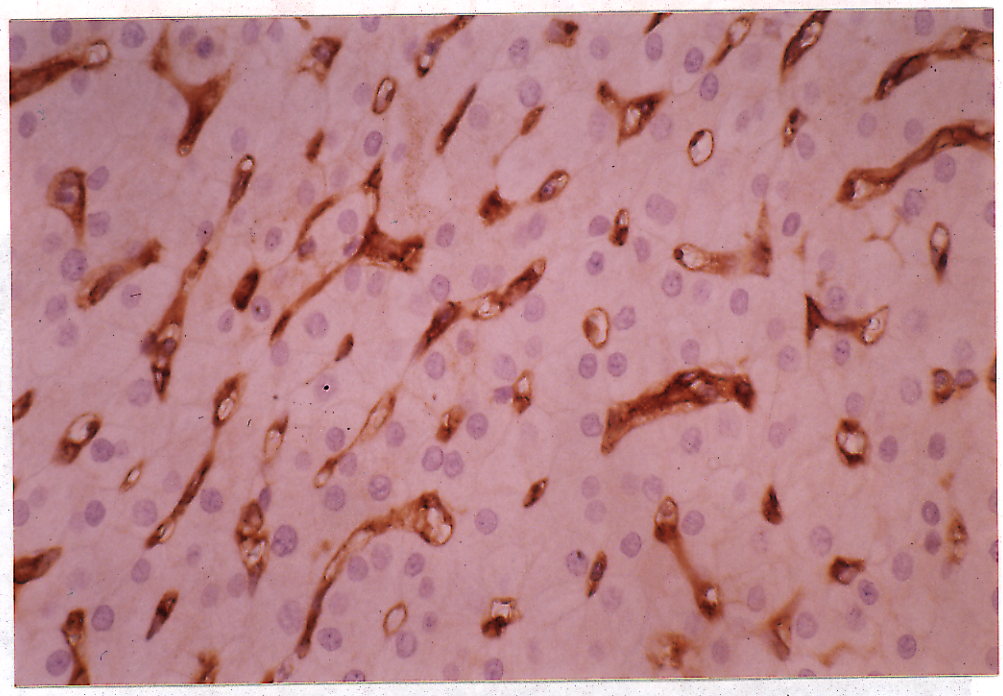


Fig. IV-1　　正常肝組織におけるβ_2-ＭＧの分布
（抗β_2-ＭＧモノクローナル抗体によるＡＢＣ染色、200倍）

類洞の内皮細胞、Kupffer細胞は染色されるが肝細胞膜は染色されない。

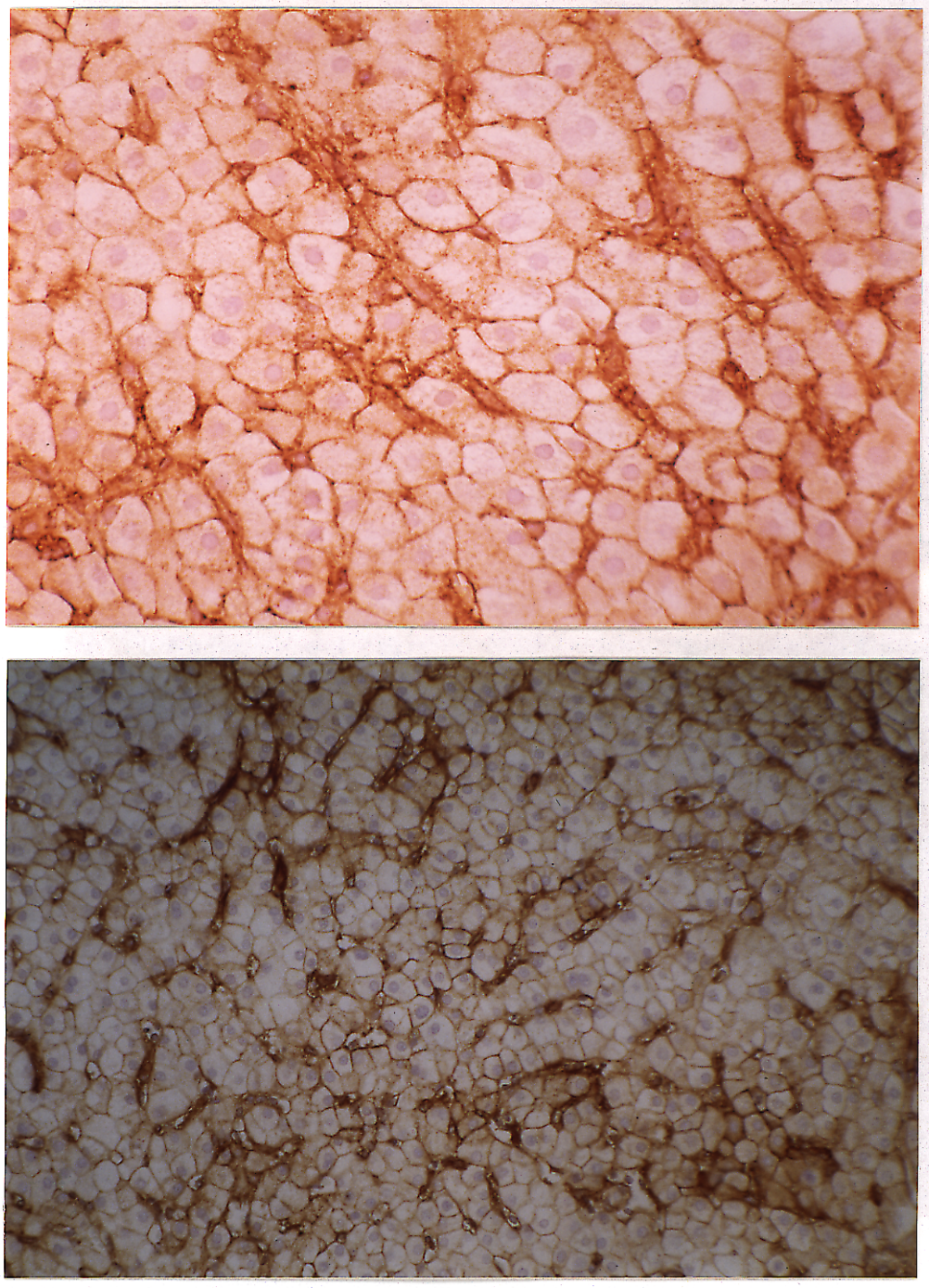


Fig. IV-2　慢性非A非B型肝炎におけるβ_2-MGの分布
（抗β_2-MG抗体によるABC染色、200倍）

β_2-MG陽性肝細胞がびまん性に分布している。

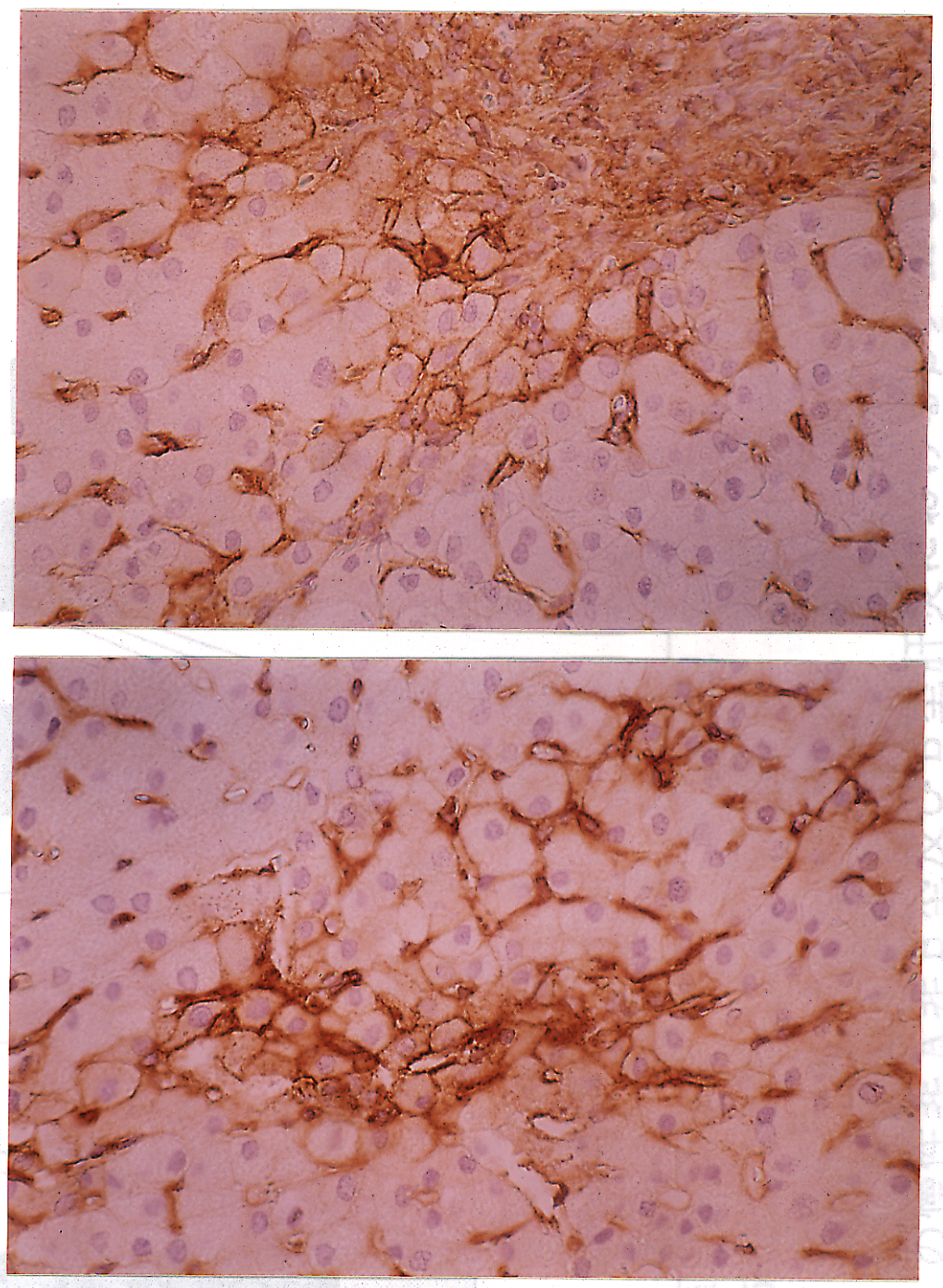


Fig. IV-3　慢性B型肝炎におけるβ_2-MGの分布
（抗β_2-MGモノクローナル抗体によるABC染色、200倍）

β_2-MG陽性肝細胞が限界板の破壊された部分の周囲（上）や小葉内のfocal necrosis周囲（下）に多くみられる。

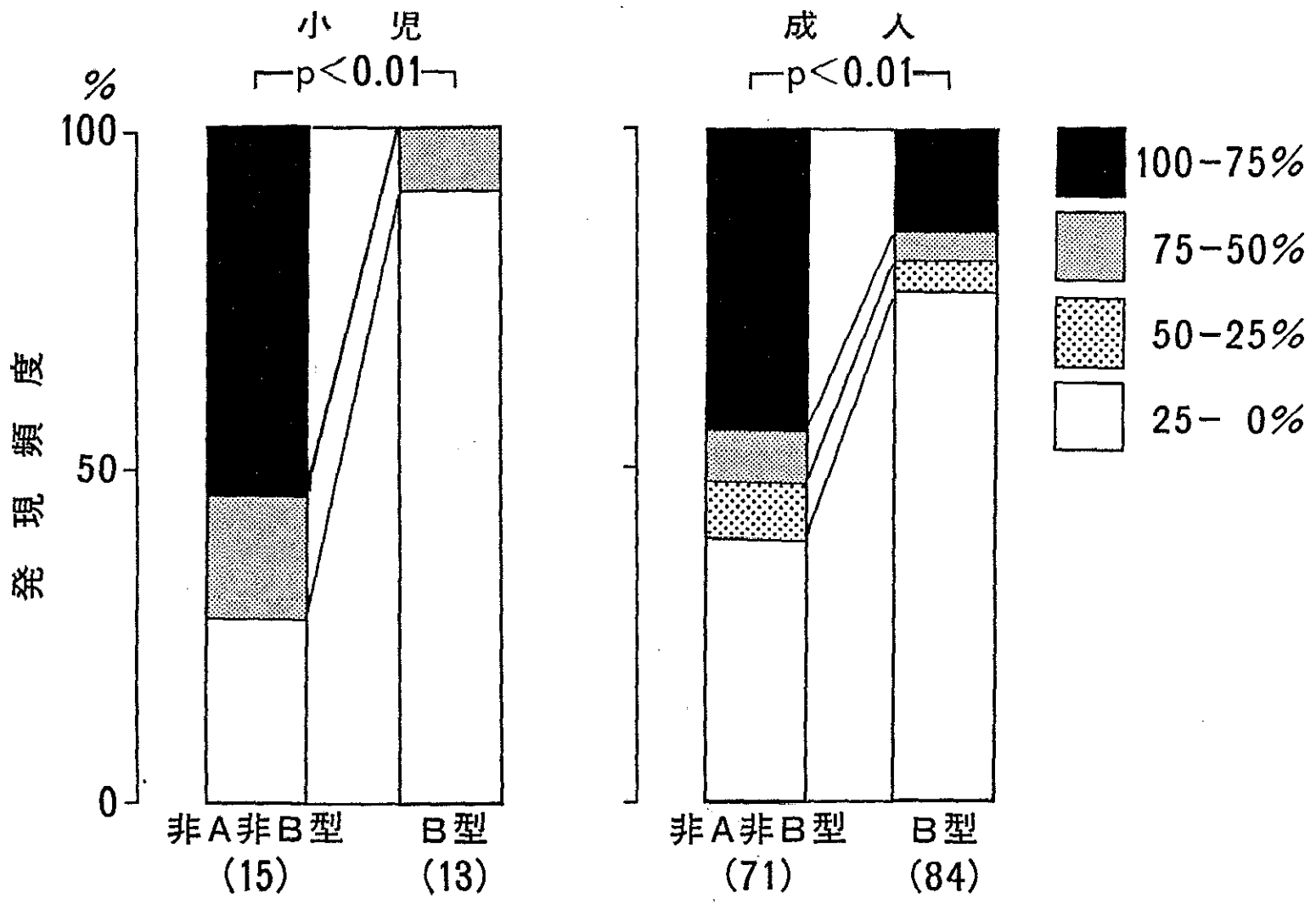


Fig. IV−4　小児と成人の慢性非A非B型及びB型肝炎におけるβ_2−MG%

小児、成人ともに非A非B型の方がB型よりもβ_2−MG%が75%以上の症例が多く、25%以下の症例が少ない。カッコ内は症例数。

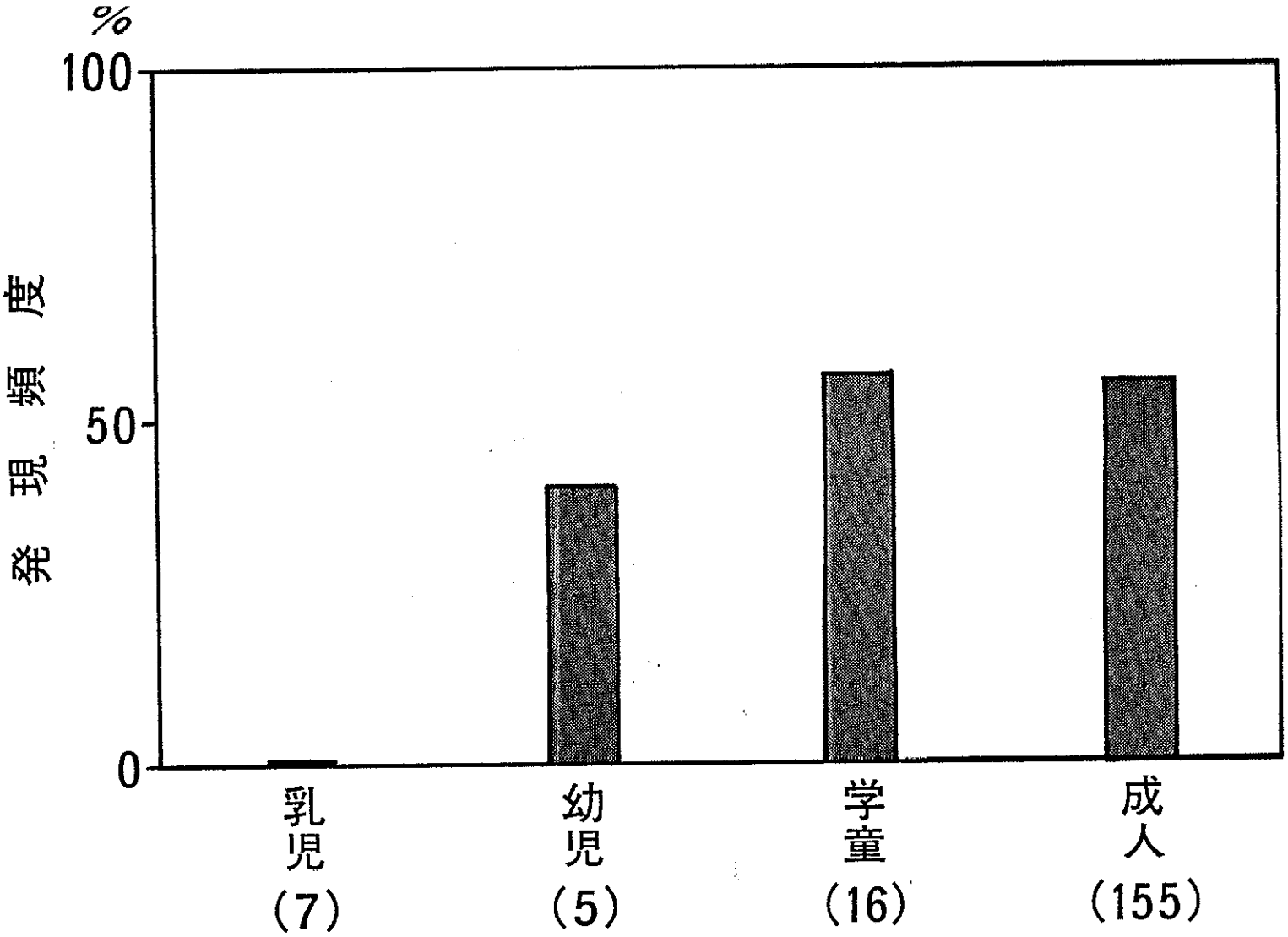
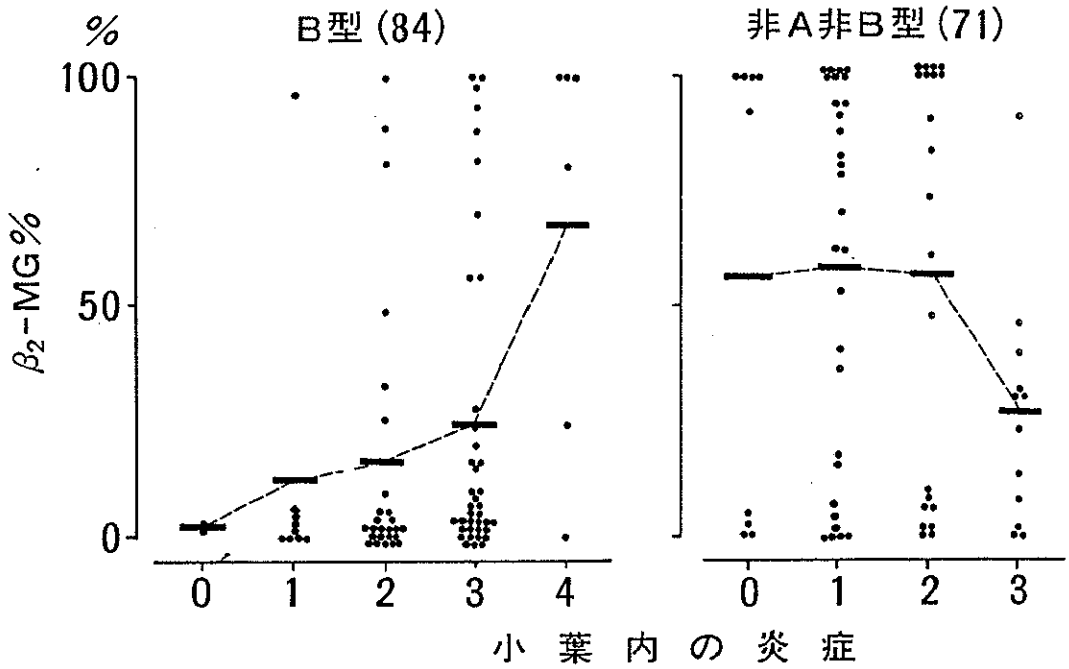


Fig. IV−5 β_2−MG％＞5％の頻度

各年齢層におけるβ_2-MG％が5％以上の症例の頻度を示す。カッコ内は症例数。



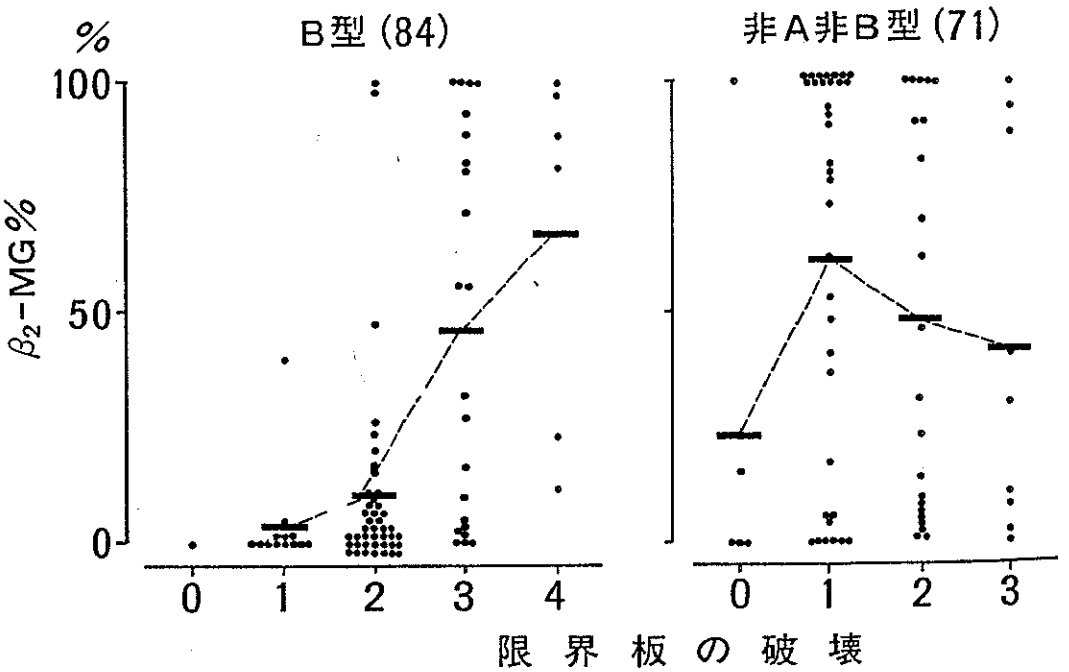


Fig.IV-6 HAIとβ_2-MG%（成人）

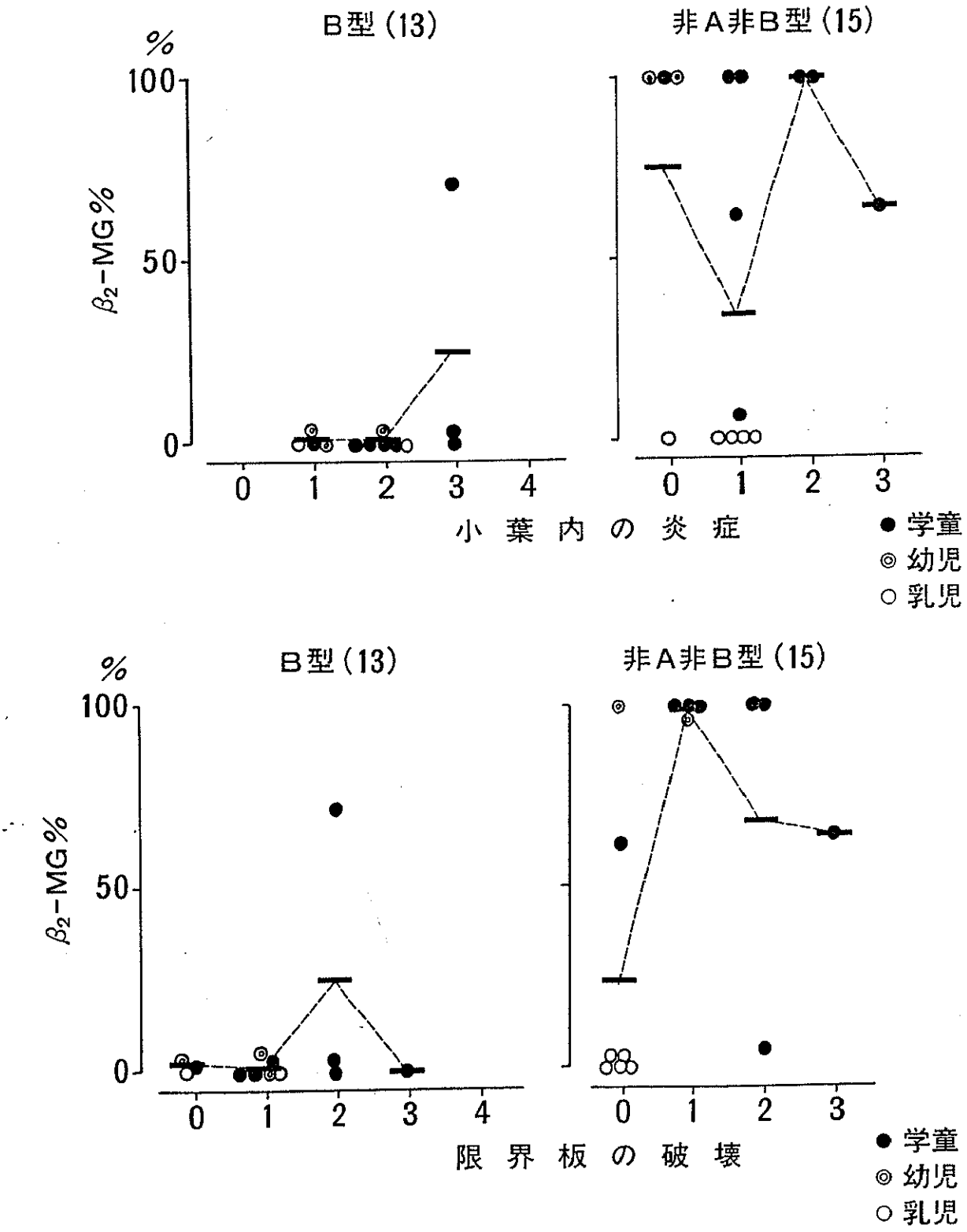


Fig.IV-7 HAIとβ2-MG%（小児）

ii) ＨＬＡ－ＤＲ抗原

ＨＬＡ－ＤＲ抗原は正常対照群では類洞のKupffer細胞、内皮細胞、一部のリンパ球の細胞膜が染色されたのみで肝細胞膜は全く染色されなかった。慢性肝炎においても肝細胞膜上にＨＬＡ－ＤＲ抗原の確認された症例はみられなかった。

iii) ＨＢｃ抗原

Ｂ型群97例中、血中ＨＢｅ抗原陽性は78例、ＨＢｅ抗体陽性は15例、不明が4例であり、ＨＢｅ抗原もＨＢｅ抗体も陰性の症例は含まれなかった。ＨＢｃ抗原はＨＢｅ抗原陽性例の74％、ＨＢｅ抗体陽性例の60％に染色され、核内にのみ染色されるもの、細胞質にのみ染色されるもの、その両方に染色されるものと様々であった。血中ＨＢｅ抗原陽性例の31％が細胞質のみに、24％が核のみに、19％が核と細胞質の両方に染色された。一方血中ＨＢｅ抗体陽性の21％が細胞質のみに、12％が核のみに、27％が核と細胞質の両方に染色され、血中ＨＢｅ抗原陽性例と血中ＨＢｅ抗体陽性例の間に明らかな差は認められなかった。

ＨＢｃ抗原陽性肝細胞は散在性に分布しており、その分布は小葉内の炎症巣との関係はみられず、β_2-ＭＧ陽性肝細胞の分布とも明らかな関係はみられなかった。

Ｃ）考察

慢性肝炎ではウイルスの量や感染期間と肝機能障害や肝組織の活動性の程度とは必ずしも一致しない[56]。その理由として最近、HLAclassI抗原の存在が注目されている[99]。HLA classI抗原が肝細胞膜上に発現されている症例では，細胞障害性T細胞がウイルス抗原と肝細胞膜上のHLA classI抗原を同時に認識して肝細胞障害が生じると考えられており[99]、実際、慢性肝炎の活動性とHLA classI抗原の発現との間には相関があるという報告[142][180]もみられる。浸潤リンパ球は慢性非A非B型肝炎と慢性B型肝炎ではほぼ同一のものと考えられているので、慢性肝炎の活動性に非A非B型とB型で相違がある原因としてはHLA抗原の肝細胞膜上の発現の分布、程度の差が最も有力視されている。筆者はこの点を明らかにするため、抗β_2-MG抗体を用いて肝細胞膜上のHLA classI抗原を、抗HLA－DR抗原抗体を用いてHLA－DR抗原を免疫組織化学的手法を用いて検索した。

その結果、B型では炎症巣に一致してHLA classI抗原を発現した肝細胞がみられ、その発現頻度は限界板の破壊や小葉内の炎症所見の強さと比例しており、従来の報告と一致するものであった。しかし、非A非B型では慢性肝炎の活動性とHLA classI抗原の発現頻度は相関せず、また後者の分布も炎症巣とは無関係にびまん性にみられ、その発現様式には両者の間で明らかな差がみられた。このことから慢性非A非B型肝炎では、HLA classI抗原はその活動性において中心的な役割を果たしていないこと、なんらかのHLA classI抗原を強く発現させる機転が働いていることが示唆された。

HLA classI抗原を肝細胞膜上に発現させる因子としては

ＩＦＮ、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＴＮＦが知られている[99)187)]が、肝臓において確認されているのはＩＦＮのみである[153)]。慢性肝炎にＩＦＮ[152)]、ＩＬ－２[187)188)]を投与すると、ＨＬＡ classⅠ抗原の発現が誘導されることが確認されており、また、血中β_2-ＭＧ[110)]や単核球β_2-ＭＧ[189)]もそれに伴い上昇することが知られている。ＩＦＮはウイルスに感染した肝細胞、浸潤リンパ球及び線維芽細胞で産生される[153)]ので、慢性Ｂ型肝炎において炎症巣に一致して肝細胞膜上にＨＬＡ classⅠ抗原の発現がみられたことは、ＨＬＡclassⅠ抗原陽性肝細胞に細胞障害性Ｔ細胞が集まってきたとも、また集簇したリンパ球がγ-ＩＦＮを産生して近隣の肝細胞のＨＬＡ classⅠ抗原を発現したとも考えられるが、実際にはこの両者の機転が働いて壊死炎症反応が持続するものと思われる。

慢性非Ａ非Ｂ型肝炎でＨＬＡ classⅠ抗原の発現がより強く認められた事実は、これまでに報告された以下の事実と一致するものである。

１）血中β_2-ＭＧが慢性非Ａ非Ｂ型肝炎で慢性Ｂ型肝炎よりも高値を示す[171)]。

２）検索された２例の急性非Ａ非Ｂ型肝炎では全ての肝細胞がＨＬＡ classⅠ抗原陽性であった[139)]。

３）慢性肝炎にＩＦＮ－βを投与すると慢性Ｂ型肝炎では一過性の血清トランスアミナーゼと血清β_2-ＭＧの上昇が認められるが、慢性非Ａ非Ｂ型肝炎ではこれらは認められず、少なくともＩＦＮ－βの治療に対する反応の面においては、慢性非Ａ非Ｂ型肝炎は慢性Ｂ型肝炎と著しく相違しており、両者の間に感染ウイルスの相違による免疫学的側面において違いのあることが推定される[36)]。

一方、ＨＬＡ classII抗原が慢性肝炎の壊死炎症反応に主要な役割を果たしているのではないかという説[128)160)]を検討するため、全例でＨＬＡ－ＤＲ抗原の検索を試みたが、これらは確認されなかった。この成績も大田らの報告[36)]に一致するものであった。したがって、ＨＬＡ classII抗原が慢性肝炎における壊死炎症反応の主因とは考えにくいと思われた。

ＨＢｃ抗原がウイルス関連の細胞障害性Ｔ細胞の標的抗原として注目されているが、今回の検索では特にＨＢｃ抗原の発現の程度と肝細胞壊死の程度との間に相関は認められず、また、ＨＢｃ抗原が肝細胞膜上に染色されている所見も観察されなかった。

慢性Ｂ型肝炎に対するＩＦＮの効果はわが国で約30%にとどまっているが、欧米では60-70%の有効率をあげている[36)74)]。これはわが国では慢性Ｂ型肝炎の多くが母子垂直感染または父子水平感染によるものであり[17)]、幼若小児期に感染した慢性Ｂ型肝炎は、成人になってから感染した慢性Ｂ型肝炎に比しＩＦＮの効果が低い[74)]こと、ＨＢウイルス遺伝子を組み込まれた肝細胞はＩＦＮに対する反応性が低下すること[36)]などに起因するものと思われる。また、このようなＩＦＮに対する反応性の低下がＨＬＡ classＩ抗原の発現の異常に関与していることも考えられる。

Ｄ）小括

１）慢性肝炎におけるＨＬＡ classＩ抗原、ＨＬＡ－ＤＲ抗原の肝組織上の局在を非Ａ非Ｂ型とＢ型で比較検討した。なお、慢性

B型肝炎においてはＨＢｃ抗原についても検索した。

２）ＨＬＡ classⅠ抗原はＢ型より非Ａ非Ｂ型の方が発現が強い傾向が認められた。しかし、非Ａ非Ｂ型では発現の頻度と組織学的活動性とは相関せず、その分布も炎症巣とあまり関連がなかった。一方、Ｂ型ではＨＬＡ classⅠ抗原発現の頻度と組織学的活動性とが相関し、その分布も限界板破壊や小葉内のspotty necrosisの周囲に強かった。

３）ＨＬＡ－ＤＲ抗原は肝細胞膜上に検出できなかった。

４）ＨＢｃ抗原が肝細胞壊死に直接関与している所見は認められず、ＨＢｃ抗原陽性肝細胞の分布とＨＬＡ classⅠ抗原発現肝細胞の分布の間にも明らかな関係は認められなかった。