

慢性C型肝炎にみられる肝炎性胆管障害の免疫病理学的検討：原発性胆汁性肝硬変との比較を中心に

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9338

慢性C型肝炎にみられる肝炎性胆管障害の免疫病理学的検討： 原発性胆汁性肝硬変との比較を中心に

金沢大学医学部医学科内科学第一講座 (主任：小林健一教授)

金沢大学医学部医学科病理学第二講座 (主任：中沼安二教授)

鍛 治 恭 介

慢性C型肝炎の病理組織学的所見の一つとして肝炎性胆管病変が知られており、原発性胆汁性肝硬変の肝内胆管病変との類似性が注目されている。今回この肝炎性胆管病変の出現頻度や病理学的意義を慢性C型肝炎149例を用い検討した。肝炎性胆管障害は門脈域内のリンパ球内に埋もれて、あるいは接して観察され慢性C型肝炎149例中60例(40%)に認められた。慢性B型肝炎では18例中3例(17%)に同様の病変がみられた。本胆管病変は非連続性に分布しリンパ球と接して観察されたので、本病変の発生には免疫学的機序の関与が示唆された。次に障害胆管周囲に浸潤する免疫担当細胞、特に初期の免疫学的組織障害に重要な抗原提示細胞の分布を免疫組織化学的手法を用いて検討し、原発性胆汁性肝硬変と比較した。抗原提示細胞としてB細胞に抗原を提示するろ胞様樹状突起細胞、及びT細胞に抗原を提示する指状嵌入細胞の2種類の細胞を検討し、さらに抗原提示の際に必要なB7-2分子を表出する細胞についても検討を行った。ろ胞様樹状突起細胞は門脈域に網目状に認められ、慢性C型肝炎の41%に、原発性胆汁性肝硬変の10%に認められ、慢性C型肝炎で高率であった($p < 0.001$)。指状嵌入細胞は門脈域に散在性に分布し慢性C型肝炎の12%に、原発性胆汁性肝硬変の19%に認められ、両疾患間でその出現率に差はなかった。しかし指状嵌入細胞の出現頻度とそれぞれの疾患の病期との関連を検討すると、原発性胆汁性肝硬変では病期の進展に伴い指状嵌入細胞の発現頻度が減少した。一方慢性C型肝炎では病期の進展と指状嵌入細胞出現頻度との間に関連性は認められなかった。B7-2陽性細胞は門脈域に散在した。原発性胆汁性肝硬変例では、B7-2陽性細胞が障害胆管に接している像も観察された。B7-2陽性細胞を中等度以上認めた例は慢性C型肝炎(17%)より原発性胆汁性肝硬変(41%)で高率であった($p < 0.05$)。しかし原発性胆汁性肝硬変で病期の進行した4期では、B7-2陽性細胞を中等度以上に認めた例はなかった。その他の所見として原発性胆汁性肝硬変では胆管消失がしばしば認められたが、肝炎性胆管障害を認める慢性C型肝炎では、胆管消失はほとんどなく、両者の大きな相違点の一つであった。以上より慢性C型肝炎に出現する肝炎性胆管障害は門脈域内に出現するリンパ球と密接に関連しており、リンパ球を構成する細胞による免疫学的機序が胆管病変の発生に関連すると考えられた。また本病変は形態学的には原発性胆汁性肝硬変の胆管障害と類似しているが、その周囲での抗原提示細胞の種類は異なっており、胆管消失像もなく、免疫病理学的に原発性胆汁性肝硬変の胆管障害とは異なっていた。

Key words chronic hepatitis C, hepatic bile duct injury, primary biliary cirrhosis, chronic nonsuppurative destructive cholangitis

C型肝炎ウイルス (hepatitis C virus, HCV) の抗体系が測定出来るようになり¹⁾、慢性非A非B肝炎の大部分がC型肝炎であることが明らかになってきた。そして、現在、慢性C型肝炎の病理組織像とその意義が種々の角度から検討されている²⁾。慢性C型肝炎の主な特徴的な病理学的所見として、門脈域におけるリンパ球の出現や肝細胞の脂肪化、肝内小型胆管にみられる肝炎性胆管障害などがあげられる³⁾。このうち、肝炎性胆管障害は原発性胆汁性肝硬変症 (primary biliary cirrhosis, PBC) に特徴的に認められる慢性非化膿性破壊性胆管炎 (chronic nonsuppurative destructive cholangitis, CNSDC) と形態学的に

類似しており⁴⁾、その異同と病態の類似性が注目されている。歴史的には本病変は、Poulsenら⁵⁾が、1969年に既に肝炎性胆管障害 (hepatic bile duct injury) として報告しており、別名 Poulsen-Christoffersen病変とも呼ばれ、この病変の出現を伴う慢性肝炎の患者の予後が不良であったと述べている。しかしその病態や障害機序に関しては、HCVの測定系が確立するまでは、十分な検討は行われていなかった。

従来の免疫病理学的検討で、PBCのCNSDCの障害胆管上皮にはヒト白血球抗原 (human leucocyte antigen, HLA) のDR領域が異所性に発現し、抗原提示やT細胞の活性化に関連すること

平成10年7月21日受付、平成10年10月14日受理

Abbreviations : ABC, avidin-biotin-peroxidase complex; AIH, autoimmune hepatitis; APAAP, alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase; CNSDC, chronic nonsuppurative destructive cholangitis; FDC, follicular dendritic cell; HBsAg, hepatitis B surface antigen; HCV, hepatitis C virus; HLA, human leucocyte antigen; IDC, interdigitating dendritic cell; LDC, lymphoid dendritic cell; LT beta R, lymphotoxin-beta receptor; PBC, primary biliary cirrhosis

が指摘され、一方慢性C型肝炎での肝炎性胆管障害にはHLAのDR領域の発現が認められないことが報告され⁷⁾、両疾患の相違の一部が検討されている。しかし両疾患での障害胆管周囲に浸潤する免疫担当細胞の種類やその多寡、また役割に関してはまだ不明な点が多く残されている。PBCの胆管障害は自己免疫学的機序によるものと考えられており、免疫学的障害機序の最終段階において、細胞障害性T細胞がアポトーシスを介して肝内胆管を攻撃しているとされている⁸⁾。免疫応答の標的抗原として、ピルビン酸脱水素酵素⁹⁾やムチンコアプロテイン¹⁰⁾などが候補として注目されているが未だ結論は得られていない。また慢性C型肝炎にみられる肝炎性胆管障害での初期段階の免疫応答に関しては、全く知られていない。

免疫応答の開始段階においては抗原の提示が最も重要なステップの一つであるが、この抗原提示の段階において、樹状細胞(dendritic cell)が大きな役割を果たすことが明らかになってきている¹¹⁻¹³⁾。樹状細胞は免疫グロブリンのカルボキシル末端に対するレセプターを持ちリンパ球胞内に網目状に分布し長期間抗原を提示し続けるろ胞状樹状細胞(follicular dendritic cell, FDC)¹⁴⁾とリンパ球性樹状細胞(lymphoid dendritic cell, LDC)とに分けられる。LDCは骨髓由来で、未感作(naive)T細胞に対して強い抗原提示作用があり、皮膚ランゲルハンス細胞や、末梢血にあり主にT細胞に抗原を提示する指状嵌入細胞(interdigitating dendritic cell, IDC)などが代表的である¹⁷⁻¹⁹⁾。また抗原提示の際には提示細胞の表面にHLA分子のみならずB7-2分子も共役因子として発現していることが必要であることが分かかってきており²⁰⁻²⁵⁾、B7-2分子を有する細胞の検討も免疫応答の開始を研究するために、必要と考えられる。

そこで今回、慢性C型肝炎に認められる肝炎性胆管障害に関して、肝炎の進行度やリンパ球胞等の組織学的所見との関連性を検討した。さらに免疫組織化学的手法を用いて、障害胆管周囲に浸潤する免疫担当細胞の中で、免疫反応の最初に起きる重要な段階である抗原提示に関わる樹状細胞やB7-2陽性細胞に関して検討し、慢性C型肝炎にみられる肝炎性胆管障害とPBCにおけるCNSDCとの比較を試みたので報告する。

対象および方法

I. 肝炎性胆管障害の病理組織学的観察

1. 対象

金沢大学第2病理学教室で1992年から1994年の間に経験し、インターフェロンなどの抗ウイルス療法を受けていない慢性C型肝炎149例の針生検肝を対象とした。HCV抗体はELISA法

(オルソ社、東京)にて測定し、肝生検前の血清にて全例陽性であることを確認した。またエタノール換算で一日80g以上の飲酒歴のある症例と、HCV抗体とともにB型肝炎ウイルス表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)が陽性の症例、すなわちB型肝炎ウイルスとHCVの重複感染例は除外した。これらの症例の年齢は20歳から79歳に分布し、平均年齢は53.5歳(男80例、女69例)であった(表1)。

対照は当教室で経験した肝疾患症例の中から無作為に抽出した慢性B型肝炎18例およびPBC5例とした。慢性B型肝炎症例の平均年齢は37.0歳(男15例、女3例)であった(表1)。いずれも、HBsAg陽性でインターフェロンやステロイドなどの治療は受けていない。また今回検索したPBC症例は臨床的に抗ミトコンドリア抗体が陽性で胆道系酵素の持続的上昇があり、肝組織像もPBCに一致し、PBCの診断基準²⁶⁾を満たしており、平均年齢は48.0歳、全例女性で、材料はすべて針生検であった。

2. 組織標本の作製

各々の生検肝は10%中性ホルマリン固定後パラフィン包埋した各々のブロックより、約4μmの厚さの切片を約10枚作製した。これらの切片を、脱パラフィン後、HE染色、アザン・マロリ染色、オルセイン染色、鍍銀染色を行い、光学顕微鏡下に観察した。

3. 病期分類

1) 慢性ウイルス性肝炎の病期分類

慢性ウイルス性肝炎の病期は、Desmetら²⁷⁾により提唱された国際肝臓学会の線維化(病期)分類に従い、線維化の程度および肝小葉構造の変化により1期から4期に分類した。すなわち1期(線維隔壁がないかあるいは線維化が門脈域に限局している段階)、2期(門脈域の線維性拡大あるいは門脈域からの線維性隔壁形成をみる小葉構造の乱れがない段階)、3期(門脈域の中等度以上の線維化に加え肝小葉構造の乱れを伴う段階)、4期(肝硬変性再生結節の出現を伴う肝硬変期)の4期に分類した(表1)。

2) PBCの病期分類

PBCの病期は、Ludwigら²⁸⁾に従い病理組織学的に行い、1期(肝限界板の破壊のない段階)、2期(種々の程度の肝限界板の破壊と線維化と非定型的細胆管の増生を認める時期)、3期(線維化が進行し、線維性隔壁が形成される段階)、4期(肝硬変期)の4期に分類した(表1)。

4. 肝内小型胆管の障害の評価および他の病理学的所見

1) 肝内胆管系の解剖学的名称

ヒト肝内胆管系は、肉眼的に同定可能な肝内大型胆管とそ

Table 1. Subjects and their main clinicopathologic features

Diseases	Number of cases examined		Age ($\bar{x} \pm SD$, years)	Number of cases			
	Sex			Stage			
	Male	Female		1	2	3	4
Chronic hepatitis C	80	69	53.5 ± 12.8	70	47	15	17
Chronic hepatitis B	15	3	37.0 ± 12.0	8	5	4	1
PBC	0	5	48.0 ± 15.0	2	2	1	0

PBC, primary biliary cirrhosis.

の分枝である肝内小型胆管とに大きく2分される²⁹⁾³⁰⁾。肝内小型胆管は、その組織像により、隔壁胆管(外径が100 μ m以上)、中等大および小型小葉間胆管(外径がそれぞれ20~40 μ mと50 μ m~100 μ m)、細胆管(外径が20 μ m以下)に分類される。肝炎性胆管障害像は主に小型小葉間胆管にみられるので、このレベルの胆管を主に針生検肝で観察した。

2) 肝炎性胆管障害と胆管消失

HE染色で胆管上皮を観察し、上皮細胞の腫大、空胞化、胞体の好酸性の増加、核の極性の乱れが認められる場合を肝炎性胆管障害ありと判定した。核上部の微細な粘液変性、細胆管増生の空胞化は肝炎性胆管障害とは判定しなかった。また胆管消失に関しては、肝動脈枝を認める門脈域のみを観察対象とし、門脈域内に明らかに胆管が認められないものを胆管消失ありと判定した。

3) 障害胆管の三次元的観察

肝炎性胆管障害を認めた慢性C型肝炎2例から、約50枚の4 μ m厚の肝連続切片を作製し、HE染色を行い鏡検し、障害胆管と門脈域の浸潤細胞やリンパ球との関係を三次元的に観察した。

4) その他の病理組織学的所見との比較

門脈域におけるリンパ球浸潤、細胆管増生、ピースミール壊死、肝実質の炎症、脂肪変性について半定量的に、陰性(absent)、軽度(mild)、中等度(moderate)、高度(severe)の4段階に分類した。すなわち、門脈域のリンパ球浸潤の定義は、胚中心の有無に関わらずリンパ球の密な集簇を意味するものとし、その程度を標本内の全門脈域に関して総合的に判定した。細胆管増生やピースミール壊死に関してもその程度を標本内の全門脈域に関して総合的に判定した。肝実質の炎症は巣状壊死の程度や実質内の単核球細胞の浸潤の多寡により判定した。また脂肪変性に関しては肝標本の肝細胞に脂肪変性を認めないものを陰性、25%未満に脂肪変性を認めるものを軽度、25%以上70%未満の症例を中等度、70%以上に認められるものを高度と分類した。そしてそれぞれの項目ごとに中等度以上の症例と軽度以下の症例に分類し、肝炎性胆管病変との関連性を調べた。また慢性肝内胆汁うっ滞や慢性進行性の肝障害時にみられる門脈域辺縁部肝細胞のオルセイン陽性顆粒³¹⁾についてはその有無を観察した。そして、これらの肝病理所見と肝炎性胆管障害との関連性を比較した。

II. 障害胆管周囲でのFDC、IDC及びB7-2陽性細胞の免疫組織化学的検索

1. 対象

当教室で経験した肝炎性胆管障害を認める慢性C型肝炎の中

から無作為に90例、90例、75例をそれぞれ選んでFDC、IDC及びB7-2陽性細胞の分布を調べた。また当教室で経験した症例の中からそれぞれ無作為に選んだPBC63例、及び自己免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)7例を対照とした。AIHは厚生省難治性の肝炎調査研究班の診断基準³²⁾を満たし、全例HBsAg、HCV抗体は陰性であった。AIHも慢性C型肝炎と同様に線維化の程度により1期から4期までに分類した。

2. 方法

抗原提示細胞の一種であるFDC、IDC及びB7-2陽性細胞の発現と分布、またその数を半定量的に調べた。なおFDCでは抗CD35抗体³³⁾(DAKO, Glostrup, Denmark)、IDCでは核ラミンAとCを認識する抗ヒトIDC抗体³⁴⁾(BMA, Santa Barbara, USA)、B7-2陽性細胞では抗B70抗体³⁵⁾(Pharmingen, San Diego, USA)を用いた。表2に1次抗体、2次抗体、および実際の染色に用いた最適希釈倍率を示す。なお最適希釈倍率は、予備的検討により決定した。

FDC、IDCの組織学的検索(免疫染色)はHsuら³⁶⁾のアビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ複合体(avidin-biotin-peroxidase complex, ABC)法に従った。すなわち、ホルマリン固定後パラフィン包埋切片を脱パラフィンし、0.3%過酸化水素(H₂O₂)加エタノール液中に20分間置き、内因性ペルオキシダーゼを失活させた。その後、切片を10%ウマ正常血清で20分間処理し、非特異的反応を防止した。次いで、切片上で各々の1次抗体を4℃で一夜反応させ、200倍に希釈したビオチン化ウマ抗マウスIgG抗体(Vector Laboratories, Burlingame, USA)を室温で45分間作用させた後、使用直前に混合したABC混合液(Vector Laboratories, Burlingame, USA)を室温で45分間反応させた。その後、0.03% H₂O₂を加えた0.2% 3,3'-ジアミノベンチジン4塩酸塩(Sigma, St. Louis, USA)で5分間から10分間発色させた。また各々の染色や反応は、リン酸緩衝溶液で十分に洗浄した後に行った。ヘマトキシリンで淡く核染後、脱水封入し、鏡検した。B7-2陽性細胞の免疫染色では、アルカリフォスファターゼ抗アルカリフォスファターゼ(alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase, APAAP)法に従った。すなわち、内因性ペルオキシダーゼ処理を除いて、前述のABC法と同様の手順で二次抗体まで反応させた。その後はトリス緩衝液で洗浄し、アルカリフォスファターゼ結合ストレプトアビジン・ビオチン・複合体(DAKO, Glostrup, Denmark)と30分反応させ、ファーストレッドで赤色に発色させ、ヘマトキシリンで淡く核染後、脱水封入し、鏡検した。

3. FDC、IDC及びB7-2陽性細胞の評価方法

FDCの評価は門脈域に網目状に認められる症例を陽性とし、

Tabel 2. Primary and secondary antibodies and their dilution and sources

Antibodies	Animals	Dilution	Source
Primary antibodies			
Anti CD35 (monoclonal, IgG1)	Mouse	1 : 50	DAKO, Glostrup, Denmark
Anti human IDC (monoclonal, IgG1)	Mouse	1 : 50	BMA, Santa Barbara, USA
Anti B70 (monoclonal, IgG2b)	Mouse	1 : 50	Pharmingen, San Diego, USA
Secondary biotinylated antibody			
Anti-mouse IgG (horse)		1 : 200	Vector Laboratories, Burlingame, USA

monoclonal, monoclonal antibody; IDC, interdigitating dendritic cell.

この発現パターンや反応が認められなかった症例を陰性と評価した。

IDCの評価はIDCを5個以上含むグリソン鞘が標本内の全ての門脈域の半分以上の症例を強陽性 (marked), IDCを5個以上

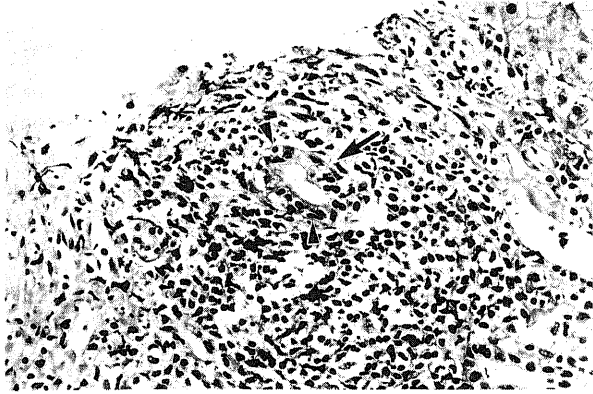


Fig. 1. Hepatic bile duct injury in chronic hepatitis C. An interlobular bile duct (arrow) embedded in a lymphoid aggregate shows variable biliary epithelial damages and intraepithelial lymphoid cell infiltration. Some mononuclear cells (arrowheads) infiltrate into the epithelial layer. HE, $\times 400$.

含むグリソン鞘がない症例を微陽性 (minimal), 強陽性例と微陽性例の間の症例を弱陽性 (mild) と評価した。

B7-2陽性細胞の評価はIDCと同様に行いB7-2陽性細胞を5個以上含む門脈域が標本内の全ての門脈域の半分以上の症例を強陽性 (marked), B7-2陽性細胞を5個以上含む門脈域が1個以上半分以下の症例を中等度陽性 (moderate), B7-2陽性細胞を含む門脈域がない症例を微陽性 (minimal), 中等度陽性例と微陽性例の間の症例を弱陽性 (mild) と評価した。

4. 病期分類

慢性ウイルス性肝炎およびPBCを前項の如くに進展度別に病期分類し1期, 2期を早期群, また3期, 4期を進展群としてFDC, IDC, B7-2陽性細胞の出現と病期との関連性をみた。

5. 統計学的処理

統計学的処理は, χ^2 検定, Fisher直接確率計算法 (Fisher's exact test) を行い, 危険率0.05未満をもって有意差有り と判定した。

成 績

I. 肝内肝炎性胆管障害と肝の病理学的所見

1. 肝炎性胆管障害と胆管消失の頻度

肝炎性胆管病変は慢性C型肝炎149例中60例 (40%) に, また慢性B型肝炎では18例中3例 (17%) に認められた。障害胆管

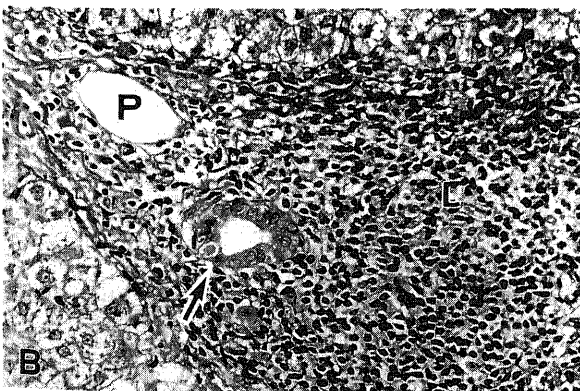
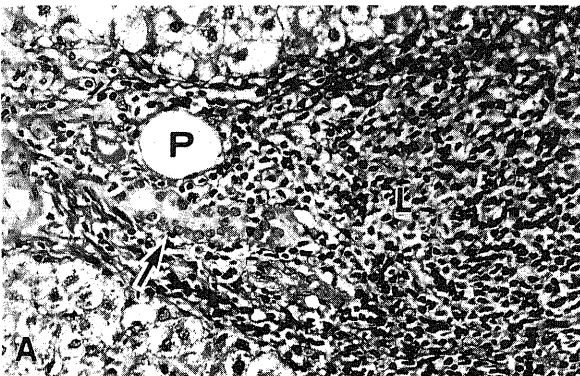


Fig. 2. Hepatic bile duct injury in a lymphoid aggregate in chronic hepatitis C. An interlobular bile duct (arrow) is apparently intact in (A). After entering into a lymphoid aggregate, this bile duct (arrow) begins to show variable epithelial damages in (B). P, portal vein; lymphoid aggregate. HE, $\times 400$.

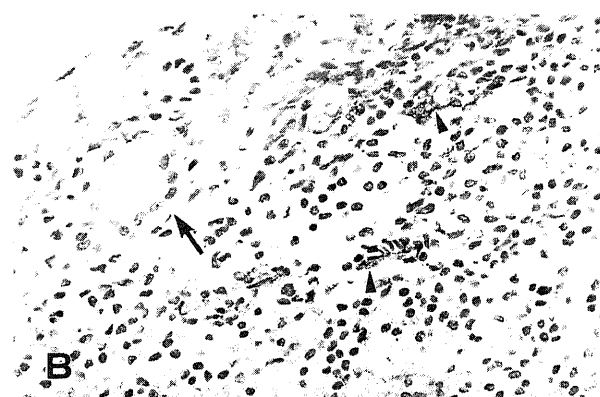
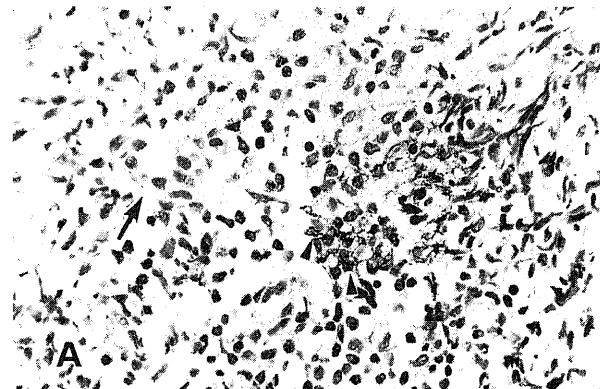


Fig. 3. Follicular dendritic cells in portal tracts in chronic hepatitis C (A) and primary biliary cirrhosis (B). Follicular dendritic cells (arrowheads) are seen, presenting a meshwork pattern. Arrow, bile duct. Immunostaining (ABC method) and hematoxylin, $\times 400$.

周囲にはリンパ球が浸潤し、胆管上皮層内にもリンパ球の侵入が認められた(図1)。なお小葉間胆管の消失は慢性C型肝炎例の2例に部分的に認めるのみであった。

2. 肝炎性胆管障害と慢性C型肝炎の病期、他の病理組織学的所見との関連性(表3)

慢性C型肝炎では、肝炎性胆管障害は1期では70例中15例(21%)に、2, 3, 4期では79例中45例(57%)に観察され、進展した群で高率に認められた($p < 0.001$)。門脈域のリンパ球浸潤では中等度以上に認められた群では57%に軽度以下の群では25%に、細胆管増生ではそれぞれ68%と35%に、ピースミール壊死では66%と31%に、実質の炎症では54%と33%に認められ、それぞれの所見の程度が強い群では弱い群より多く肝炎性胆管障害が観察された。

一方脂肪変性の程度やオルセイン陽性顆粒の有無と肝炎性肝内胆管障害の頻度との間には関連性は認められなかった。

3. 連続切片による肝炎性胆管障害の検討

本病変は、非連続性に分布していた。慢性C型肝炎症例の門脈域に認められるリンパ球から離れて存在し、形態的に正常と考えられる小葉間胆管を連続切片法を用いて追跡検討した。同小葉間胆管はリンパ球胞内に入ってから空胞変性を来しており、肝炎性胆管障害像と考えられた(図2)。他の例でも同様

にリンパ球胞外で形態的に正常と思われた小葉間胆管を連続切片法を用いて追跡検討したところ、リンパ球胞内に入ってから核の極性の乱れを認めるようになり、肝炎性胆管障害の病理組織像を呈した。なお追跡した小葉間胆管は途中で消失することなく検討した連続切片の範囲内で追跡可能であった。

II. 障害胆管周囲のFDC, IDC及びB7-2陽性細胞の免疫組織化学的検討

1. FDCの検討

FDCはリンパ球胞内に数個以上認められ、網目状に存在した(図3)。一方陽性症例の同一標本のなかでもFDCを認める門脈域と認められない門脈域が同時に存在した。またリンパ球が胞様に集簇を認める門脈域においてもFDCが観察されない症例も数多く観察された。またFDCと障害胆管の直接の接触は認められず、障害胆管との位置的な関連性は有意ではなかった。

FDCは慢性C型肝炎90例中37例(41%)に、PBC63例中6例(10%)に、AIH7例中2例(29%)に認められた。FDCはPBCより慢性C型肝炎に多く観察された($p < 0.001$)(表4)。なおFDCの出現と慢性C型肝炎及びPBCの病期との関連性は認められなかった。

2. IDCの分布

Table 3. Comparison of hepatic bile duct injury with several other histopathological features in chronic hepatitis C

Histopathologic features	Incidence of hepatic bile duct injury ^{a)}	Statistical significance
Advancement of chronic hepatitis		
Stage 2, 3, and 4	45/79 (57)	$p < 0.001^b$
Stage 1	15/70 (21)	
Lymphoplasmacytic infiltration of portal tracts (overall appearance)		
Moderate and severe	41/72 (57)	$p < 0.001^b$
Mild and absent	19/77 (25)	
Portal lymphoid aggregation		
Moderate and severe	31/41 (76)	$p < 0.001^b$
Mild and absent	29/108 (27)	
Ductular proliferation		
Moderate and severe	15/22 (68)	$p < 0.01^b$
Mild and absent	45/127 (35)	
Piecemeal necrosis		
Moderate and severe	27/41 (66)	$p < 0.001^b$
Mild and absent	33/108 (31)	
Necroinflammation of parenchyma		
Moderate and severe	29/54 (54)	$p < 0.05^b$
Mild and absent	31/95 (33)	
Steatosis		
Moderate and severe	2/6 (33)	NS ^{c)}
Mild and absent	58/143 (41)	
Orcein-positive granules		
Absent	53/134 (40)	NS ^{b)}
Present	7/15 (47)	

NS, not statistically significant.

a) Data expressed as number of patients with characteristic/total number and figures in parenthesis indicate percentage of corresponding cases.

b) Based on the χ^2 test.

c) Based on Fisher's exact test.

Table 4. Follicular dendritic cells in chronic hepatitis C, PBC, and AIH

Diseases	Stage	Incidence of positive FDC ^{a)}
Chronic hepatitis C	1	9/24 (38)
	2	15/37 (41)
	3	11/18 (61)
	4	2/11 (18)
PBC	1	2/27 (7)
	2	1/16 (6)
	3	3/18 (17)
	4	0/2 (0)
AIH	1	1/2 (50)
	2	0/2 (0)
	3	1/3 (33)
	4	/0

PBC, primary biliary cirrhosis; AIH, autoimmune hepatitis; FDC, follicular dendritic cell.

a) Data expressed as number of patients with characteristic/total number and figures in parenthesis indicate percentage of corresponding cases.

IDCは門脈域内に散在性に分布した(図4)。IDCが強陽性に認められた症例は、慢性C型肝炎90例中11例(12%)、PBC63例中12例(19%)、AIH7例中1例(14%)であった。弱陽性症例は慢性C型肝炎90例中18例(20%)、PBC63例中15例(24%)、AIH7例中1例(14%)であり(表5)、各疾患の間に出現頻度の差異は認められなかった。

病期との関連性の検討では、IDCが弱陽性以上認められた症例は慢性C型肝炎では1期で40%、2期で23%、3期で38%、4期で23%でありIDCの出現と病期との関連性は認められな

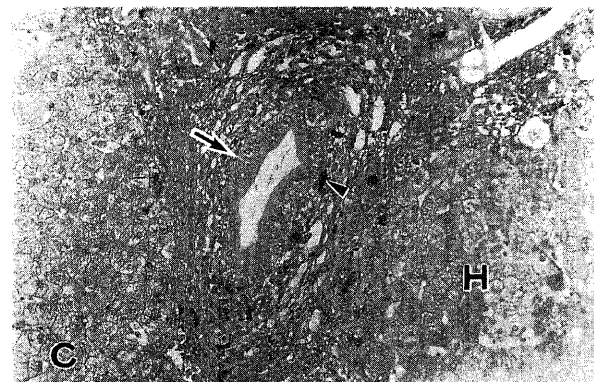
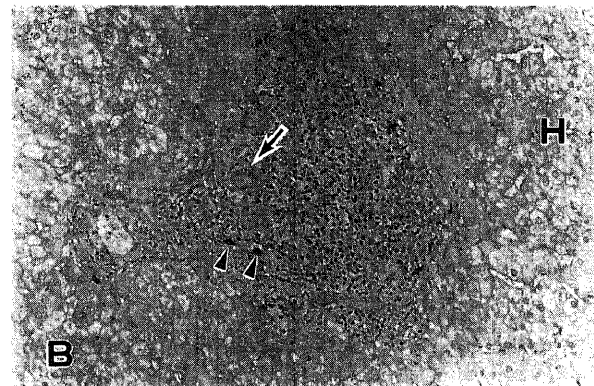
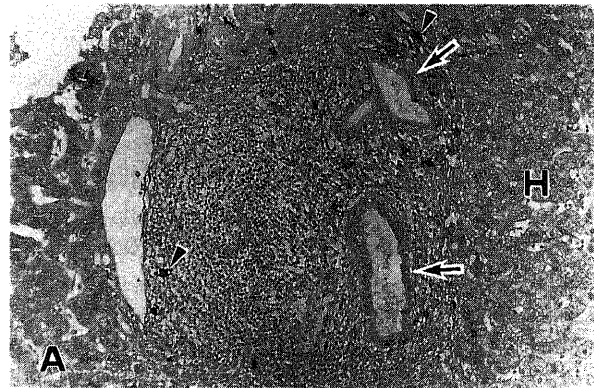


Fig. 5. Distribution of B7-2 positive cells in the liver of primary biliary cirrhosis (A, C) and chronic hepatitis C (B). B7-2 positive cells (arrowheads) are scattered in portal tracts. And a B7-2 positive cell (arrowhead) is in direct contact with the bile duct endothelium (arrow) (C). Arrows, bile ducts. H, hepatic parenchyma. Immunostaining (APAAP method), $\times 400$.

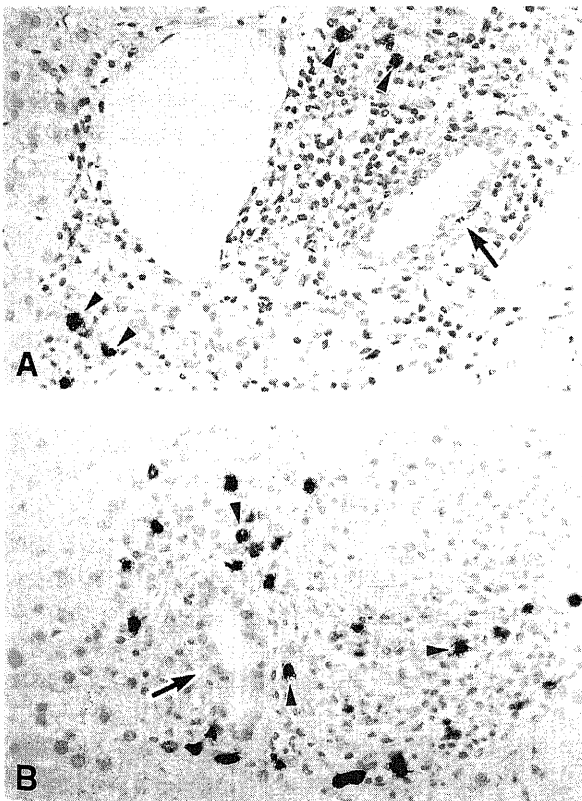


Fig. 4. Interdigitating dendritic cells in portal tracts in chronic hepatitis C (A) and primary biliary cirrhosis (B). Many interdigitating cells (arrowheads) are seen. Arrow, bile duct. Immunostaining (ABC method) and hematoxylin, $\times 400$.

った。

一方PBCではIDCが弱陽性以上認められた症例の頻度は1期で56%, 2期で50%, 3期で22%, 4期で0%で病態の進展に伴ってIDCの発現頻度が低下した。1期, 2期の早期群では43例中23例(53%), 3期, 4期の進展群では20例中4例(20%)であり, 早期の群の方がIDCの出現は有意に高率であった($p < 0.05$)。さらにPBCの早期群での53%と慢性C型肝炎の早期の群での61例中20例(33%)とを比較するとIDCの出現はPBCの早期の群で有意に高率であった($p < 0.05$)。

3. B7-2陽性細胞の分布

B7-2陽性細胞は門脈域内に散在し, その形状はIDCに類似し

ていた(図5)。またPBC症例においてはB7-2陽性細胞が障害胆管上皮層内に侵入している像が観察された(図5C)。

B7-2陽性細胞の出現の多寡と各疾患の病期別の関連性を表6に示す。B7-2陽性細胞が中等度以上認められた症例は, 慢性C型肝炎75例中13例(17%), PBC63例中26例(41%)であり, PBCにおいて高率に観察された($p < 0.01$) (図6)。

病期との関連性の検討では, B7-2陽性細胞が弱陽性以上認められた症例は慢性C型肝炎では早期群では53例中42例(79%), 進展群では22例中17例(77%)であり, 病期間に差は認めなかった。一方PBCでは早期群は42例中34例(81%), 進展群では21例中14例(67%)であり, またPBCの4期では, B7-2陽性細

Table 5. Interdigitating dendritic cells in chronic hepatitis C, PBC, and AIH

Diseases	Stage	Number (%) of cases ^{a)}		
		Density of IDC		
		Marked	Mild	Minimal
Chronic hepatitis C	1	5 (14)	9 (26)	21 (60)
	2	1 (4)	5 (19)	20 (77)
	3	3 (19)	3 (19)	10 (63)
	4	2 (15)	1 (8)	10 (77)
PBC	1	6 (22)	9 (33)	12 (44)
	2	4 (25)	4 (25)	8 (50)
	3	2 (11)	2 (11)	14 (78)
	4	0 (0)	0 (0)	2 (100)
AIH	1	0 (0)	0 (0)	2 (0)
	2	0 (0)	1 (50)	1 (50)
	3	1 (33)	0 (0)	2 (67)
	4	0	0	0

PBC, primary biliary cirrhosis; AIH, autoimmune hepatitis; IDC, interdigitating dendritic cell.

a) Data expressed as number of patients with characteristic and figures in parenthesis indicate percentages which are given for total number of cases in the same stage.

Table 6. B7-2 positive cells in portal tracts in chronic hepatitis C and PBC

Diseases	Stage	Number (%) of cases ^{a)}			
		Density of B7-2 positive cells			
		Marked	Moderate	Mild	Minimal
Chronic hepatitis C	1	3 (9)	1 (3)	24 (73)	5 (15)
	2	0 (0)	4 (20)	10 (50)	6 (30)
	3	1 (9)	1 (9)	7 (64)	2 (18)
	4	0 (0)	3 (27)	5 (45)	3 (27)
PBC	1	2 (7)	9 (33)	9 (33)	7 (26)
	2	7 (47)	1 (7)	6 (40)	1 (7)
	3	1 (5)	6 (32)	6 (32)	6 (32)
	4	0 (0)	0 (0)	1 (50)	1 (50)

PBC, primary biliary cirrhosis.

a) Data expressed as number of patients with characteristic and figures in parenthesis indicate percentages which are given for total number of cases in the same stage.

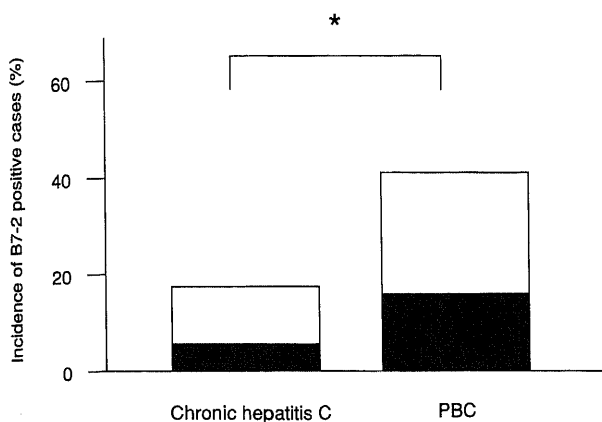


Fig. 6. Incidence of B7-2 positive cases with respect of their density in the portal tract of chronic hepatitis C and primary biliary cirrhosis (PBC). The proportion of moderate (□) and marked (■) B7-2 cell density was higher in PBC (n=63) than in chronic hepatitis C (n=75). *p < 0.01.

胞が中等度以上観察された症例は認めなかった。

考 察

肝炎性胆管病変は非A非B肝炎、あるいは近年では慢性C型肝炎に高頻度(40%-91%)に認められ、肝病変の進展や活動度に関連する病変として知られている³⁷⁾³⁸⁾。今回の検討でも慢性C型肝炎の40%に同病変が観察され、慢性B型肝炎の17%よりも高頻度であった。そこで今回、慢性C型肝炎を中心に本病変の病理学的特徴、さらに発生病理を検討した。

まず組織学的観察で、肝炎性胆管病変は門脈域内のリンパ球あるいはリンパ球集簇巣と関連してみられた。連続切片による検討より三次元的観察をした結果、一見、正常な肝内胆管がリンパ球胞内に入ったところで空胞化などの細胞傷害像が観察され、さらにその障害胆管を追跡すると、胆管がリンパ球胞の外に出た所では上皮の障害像が軽減、あるいは消失している像が観察された。これらの所見は、肝内胆管の障害がリンパ球胞内であるいはリンパ球集簇と深く関連して発生していることを示すものである。Vyberg³⁹⁾も、リンパ球胞に関連して、胆管が憩室状の拡張を示すことを報告しており、これらの所見はリンパ球胞内に存在する免疫担当細胞が肝内胆管の傷害に関連していることを強く示唆すると考えられ、肝内胆管の障害は免疫学的機序⁹⁾により惹起されていると考えられる。しかし、具体的な免疫病理学的プロセスや提示される抗原に関しては不明である。従来、リンパ球胞のある慢性肝炎はろ胞性肝炎と呼ばれ、特に慢性C型肝炎に多いとされている。慢性C型肝炎でのリンパ球胞が肝臓に出現する機構や原因は現在も不明である。B型肝炎ではHBsAgがリンパ球胞中のFDC表面に存在する³⁹⁾。C型肝炎でもリンパ球集簇部位にC型肝炎ウイルス抗原が存在し、抗原が何らかの形で宿主の免疫系に提示されている可能性がある。これらの抗原がFDC上にある意義として、液性抗体産生における免疫記憶に関係していることが想定される。

なお、胆管の消失は今回の検討では慢性C型肝炎においてはわずか2例に部分的に認められたのみであった。Bachら³⁷⁾は慢

性C型肝炎の91%に胆管消失像を認めたと報告している。この大きな相違は胆管消失の定義の問題と考えられる。今回の検討では胆管消失は門脈域内に伴走動脈が認められる場所のみを観察対象とし、その対象門脈域に明らかに胆管が認められないものを胆管消失ありと判定したため、Bachら³⁷⁾の報告より頻度が下がった可能性がある。PBCにおいては胆管の消失像は特徴的な所見だが、肝炎性胆管障害では胆管の消失が殆どなかった。肝硬変にいたる過程では、PBCは胆汁うっ滞が肝硬変に至る最も重要な病態であるのに対して慢性C型肝炎では胆汁うっ滞よりもむしろ肝細胞の破壊が主要な役割を果たしているという違いがあるが、臨床上的こうした相違は障害胆管の消失の有無や障害の程度の差などの病理所見を反映している。さらにこの消失像の有無は両者の胆管障害の機序が異なることを意味するものと思われる。

次に、肝炎性胆管障害とその他の肝病変との関連性について検討した。その結果、慢性C型肝炎の病期の進展、門脈域のリンパ球浸潤、細胆管増生、ピースミール壊死、実質の炎症の程度と正の相関を示した。肝炎性胆管障害がリンパ球胞と密接に関連することを考えると肝炎性胆管障害が門脈域のリンパ球浸潤とよく相関することは理解しやすい。また門脈域にリンパ球浸潤を高度に認めた症例では、同時にピースミール壊死や細胆管増生がよく観察された。このことは肝炎性胆管障害と肝細胞障害はお互いに関連して現れることを示唆する。一方オルセイン陽性顆粒では有意な相関関係は認められなかった。これは肝炎性胆管障害が胆汁うっ滞を呈するほどの胆管障害ではないことを意味すると考えられ、前述の如く胆管の消失がほとんど認められなかった事実と関連しPBCのCNSDCと異なることを示すものと考えられる。また脂肪変性に関しても関連は認められなかった。脂肪変性は慢性C型肝炎においては特徴的な病理所見の一つだが²³⁾、肝炎性胆管障害と異なる機序により引き起こされることを意味するものと思われる。

さて肝炎性胆管障害の免疫学的プロセスに関して今回の検討で明らかになった成績を加え考察する。免疫学的な細胞障害の最初の段階には標的抗原がTリンパ球に提示される必要があると考えられている。最近の研究によりこの抗原提示の際に樹状細胞が大きな役割を担っていることが明らかになってきた¹⁵⁾¹⁶⁾⁴⁰⁾⁴²⁾。この樹状細胞はいくつかの細胞群に分類される。今回検討したFDCとIDCはこの樹状細胞の一種であり、それぞれ異なる経路で初期免疫応答に関与している。FDCは二次性のリンパ球胞内に認められ、抗原を長期間捕捉しBリンパ球に抗原を提示するとされ、B細胞は本細胞から抗原の提示を受けて成熟し主に液性免疫に関与する¹¹⁾¹⁶⁾。一方IDCは未感作T細胞に抗原提示し初期免疫応答を引き起こす¹⁷⁾¹⁸⁾とされ、主に細胞性免疫に大きな役割を持っている。

Hinoら⁴³⁾は慢性C型肝炎組織での門脈域リンパ球胞の形成の有無に着目してリンパ球胞形成のある群では門脈域のT細胞の分画の比はT4分画が優位であり、これは自己免疫性肝炎のT細胞の分画に類似しているとして、ろ胞様のリンパ球の浸潤は慢性C型肝炎の自己免疫現象にしばしば関連するものであると指摘している。障害胆管は前述の三次元的な検討結果も考え合わせ、リンパ球胞と密接な関係を有していることから、胆管病変は何らかの自己免疫学的な機序を介して障害されていることが考えられる。

Bリンパ球関連のFDCが慢性C型肝炎においてPBCより多

く認められたことは、慢性C型肝炎の肝炎性胆管障害の主体がBリンパ球中心の液性免疫が主体であることを示唆するものと思われる。慢性C型肝炎ではクリオグロブリン血症や免疫複合体が高率に⁴⁴⁾検出され、さらに自己抗体であるゴル抗体の出現⁴⁵⁾も報告されている。また慢性C型肝炎が自己免疫性肝炎の病型に極めて類似した臨床像を呈することもあり、その鑑別が問題となる症例も多い⁴⁶⁾。このように慢性C型肝炎では全身での液性免疫の異常を示唆する現象がよく観察される。門脈域でのリンパ球形成は肝局所での液性免疫の異常を反映するものとも考えることもできる。

最近、HCVのコア蛋白が、胚中心の形成や末梢のリンパ組織の免疫反応の制御等に関わっているとされているリンホトキシンベータレセプター (lymphotoxin-beta receptor, LT beta R) と反応することが報告された⁴⁷⁾。Matsumotoら⁴⁸⁾は、HCVのコア蛋白がLT beta Rと反応して、免疫反応を変化させることにより、持続感染をもたらしている可能性があるとして指摘しているが、肝局所の門脈域でのリンパ球の形成もこうしたHCV コア蛋白の関与があるのかもしれない。

城ら⁴⁹⁾は慢性C型肝炎の初期においてリンパ球およびFDCの出現頻度がより高いことを報告している。今回の検討では病期とFDCの出現頻度の間に明らかな関連性は得られなかったが、肝硬変例においてはFDCの発現頻度は11例中2例(18%)と低いものであった。抗原提示細胞であるFDCが免疫応答の開始において機能することを考えればFDCの出現がより初期の群で高率に発現し、進展した肝硬変においては低率になることは自然な結果とも考えられる。

今までに述べてきたことから、リンパ球が門脈域に形成され、免疫応答が持続することにより、肝炎性胆管障害が高率に生じるものと考えられる。慢性C型肝炎ではこのリンパ球の形成が高率であり、肝炎性胆管障害も高率であった。リンパ球の提示している抗原や、胆管上皮でのHCV感染の有無が、明らかではない現時点では、肝炎性胆管障害がHCVに特異的な免疫応答により生じているのか、炎症の波及などの非特異的な像をみているのかは不明である。Nouriら⁴⁰⁾は生体内局所ハイブリダイゼーション (*in situ hybridization*) 法を用いて胆管上皮細胞にHCVが検出されたとしているが、その場合は、肝炎性胆管障害はHCV特異的な免疫反応によるものとも考えることも可能であろう。

IDCに関しては慢性C型肝炎より早期のPBCに多く認められた。このことはIDCが細胞性免疫と関連してPBCの発症、進展に関与している可能性を示唆するものかもしれない。IDCにより何らかの抗原がT細胞に提示され、CD4あるいはCD8陽性のT細胞が胆管を免疫学的に攻撃する機転⁵⁰⁾が考えられる。CNSDCはPBCの早期に認められ、病態が進行すると減少あるいは認められなくなることが知られており⁸⁾、IDCがこのCNSDCを構成する細胞の一つであることからこの傾向は理解される。Rontogianniら⁵¹⁾も、抗原提示細胞としてS-100陽性の樹状突起細胞を検討し、PBCの早期ではS-100陽性樹状細胞は小葉間胆管の周囲に分布し、また進展群ではピースミール壊死の認められる部位に多く存在することを報告しており、胆管病変を検討した今回の結果とよく合致すると思われる。

一方慢性C型肝炎については、IDCの出現と病期との関連性は認められなかった。正常な肝組織には認められないIDCが慢性C型肝炎に認められたことは肝細胞や胆管上皮の障害にこの

細胞が少なくとも何らかの役割を果たしていると考えられる。免疫反応の標的である肝炎ウイルスは肝炎の経過とともに変異しその抗原性が変化することが知られているが、そのために免疫側は抗原を、病態の進展と関わりなく絶えず新たに提示する必要があると考えられる。IDCの出現頻度が慢性C型肝炎の病期と関連性がなかったことはこの抗原の変化を反映する現象かもしれない。

また抗原提示の際に必要なB7-2分子が陽性の細胞に関しては、慢性C型肝炎よりもPBCに多く認められた。B7-2陽性細胞は免疫応答に強力に長期間にわたり刺激を与えることが知られており²⁹⁾、PBCにおいては慢性C型肝炎より重要な役割を果たしていると考えられる。さらにPBCの4期の進展例では、B7-2陽性細胞は、わずかに認められたのみであり、IDCと同様、B7-2陽性細胞も病態の早期に、より大きく関与している可能性を示唆するものと考えられた。

IDCやB7-2陽性細胞はT細胞に抗原を提示する細胞であり、細胞性免疫を主に担当する細胞である。CNSDCではB7-2陽性細胞が胆管上皮内に浸潤している像が観察されたが、肝炎性胆管障害では同一の門脈域にIDCやB7-2陽性細胞を認めるものの、肝炎性胆管障害との位置的な関係に乏しく、CNSDCと同様な所見は得られなかった。IDCやB7-2陽性細胞はFDCとは異なり、肝炎性胆管障害には直接には関与していないことを示唆すると考えられた。

今回は免疫担当細胞の分布やその多寡について肝炎性胆管障害やPBCのCNSDCとの関連性を検討した。数が多いことによりその細胞が実際にかんがいの役割を果たしているとは結論するのは短絡にすぎないかもしれない。しかし免疫学的な各段階において免疫担当細胞はその場所に存在分布しなければならず、ある程度の細胞数は必要と考えられる。

今回の検討では慢性C型肝炎における肝炎性胆管障害の頻度はGerberら³⁾の報告の76%やBachら³⁷⁾の報告である91%に比べて本病変の出現頻度は低かった。その理由として胆管障害の定義として今回は核上部の微細な粘液変性、細胆管増生の空胞化を含めなかったため、軽度の胆管障害が除外されたこと、または欧米との比較においては欧米と日本のC型肝炎ウイルスのジェノタイプの違い⁵²⁾によるもの、などを考慮にいれなければならないと思われる。

AIHに関してはIDCは慢性C型肝炎とPBCの間の頻度で認められたが検討した症例数が少なく今後の課題である。

最後に慢性C型肝炎における肝炎性胆管病変はPBCのCNSDCと異なり、胆管消失像まで認められたのはごくわずかであった。肝炎性胆管病変はリンパ球に密接に関連して観察され、ろ胞を構成する免疫担当細胞が肝炎性胆管障害に深く関連することが示された。本病変はCNSDCと形態学的な類似性を持つが、障害胆管周囲の浸潤細胞、特に抗原提示能を有する樹状細胞に関して検討した結果、肝炎性胆管病変はPBCにおけるCNSDCと異なることが示された。ウイルス性肝炎での抗原として、HCVに関連する物質、特にHCV-HCV抗体の免疫複合体がFDCを介して、抗原提示後に引き続き胆管上皮細胞の障害に関連すると考えられた。詳細な免疫学的なプロセスは今後の更なる検討が必要と考えられる。

結 論

慢性C型肝炎の肝組織を観察し、肝炎性胆管病変について

理的に検討した。肝炎性胆管障害の認められた肝組織ではさらに周囲の免疫担当細胞を免疫組織学的手法を用いて検討しPBCにおける肝内胆管障害と比較し、肝炎性胆管障害の免疫病理学的意義を検討し、以下の結論を得た。

1. 慢性C型肝炎の肝組織には高率に肝炎性胆管障害が認められ、リンパ球胞に関連していた。
 2. 三次元的検討では形態的に一見正常な小葉間胆管がリンパ球胞内に入り障害を受ける像が観察され、リンパ球胞内の免疫細胞が肝炎性胆管障害に関わっていることが立体的にも示された。
 3. 慢性C型肝炎で認められる肝炎性胆管障害は病期の進展、門脈域のリンパ球浸潤、細胆管増生、ピースミール壊死、実質の炎症の程度と関連した。しかし慢性C型肝炎で認められる肝炎性胆管障害は脂肪変性やオルセイン陽性顆粒の有無とは関連しなかった。
 4. 肝炎性胆管障害では胆管の消失像はほとんどなく、PBCの胆管障害とは異なっていた。
 5. 障害胆管周囲の抗原提示細胞としてFDCが慢性C型肝炎の肝炎性胆管障害で多く見られたが、PBCでは低率であった。
 6. IDCは門脈域内に散在性に出現した。IDCの出現頻度はPBC全例と慢性C型肝炎全例の間に差は認められなかったが、早期群に限定するとPBCに高率であった。
 7. IDCの出現頻度は、慢性C型肝炎の病期と関連性は認められなかったが、PBCにおいては早期の群においてより高率であった。
 8. B7-2陽性細胞は門脈域内に散在性に存在した。またPBCではB7-2陽性細胞が障害胆管上皮層内に侵入している像が観察された。
 9. B7-2陽性細胞は慢性C型肝炎よりPBCにおいて高率に認められた。またB7-2陽性細胞の出現頻度と病期の進展との関連では、慢性C型肝炎では関連性は認められなかった。一方PBCでは4期例でB7-2陽性細胞が中等度以上観察された症例は認められなかった。
- 以上より慢性C型肝炎にみられる肝炎性胆管病変はリンパ球胞と密接に関連し、胆管は何かの免疫学的機序を介して障害されていると考えられた。またその障害機序はPBCにおける胆管障害とは異なる可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御検閲を賜りました恩師小林健一教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究の遂行にあたり直接の御指導、御助言をいただきました恩師中沼安二教授に深謝の意を表します。さらに、本研究に終始御協力、御援助いただきました金沢大学医学部第一内科学講座、金沢大学医学部第二病理学講座の諸先生、技師の方々に深謝します。なお本論文の要旨は第29回日本肝臓学会総会(1993, 奈良)、第29回日本肝臓学会西部会(1994, 神戸)、第30回日本肝臓学会西部会(1995, 松江)において発表した。

文 献

- 1) Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, Miyamura T, Dienstag JL, Alter MJ, Stevens CE, Tegtmeier GE, Bonino F, Colombo M, Lee WS, Kuo C, Berger K, Shuster JR, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244: 362-364, 1989
- 2) Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, Brown D, Dusheiko GM. The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 15: 567-571, 1992
- 3) Gerber MA, Krawczynski K, Alter MJ, Sampliner RE, Margolis HS. Histopathology of community acquired chronic hepatitis C. The sentinel counties chronic non-A, non-B hepatitis study team. *Mod Pathol* 5: 483-486, 1992
- 4) Scheuer PJ. *Liver Biopsy Interpretation*, 4th ed, p40-65, Bailliere-Tindall, London, 1988
- 5) Ludwig J, Czaja AJ, Dickson ER, LaRusso NF, Wiesner RH. Manifestations of nonsuppurative cholangitis in chronic hepatobiliary diseases: morphologic spectrum, clinical correlations and terminology. *Liver* 4: 105-116, 1984
- 6) Poulsen H, Christoffersen P. Abnormal bile duct epithelium in liver biopsies with histological signs of viral hepatitis. *Acta Pathol Microbiol Scand* 76: 383-390, 1969
- 7) Nakanuma Y, Kono N. Expression of HLA-DR antigens on interlobular bile ducts in primary biliary cirrhosis and other hepatobiliary diseases: an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 22: 431-436, 1991
- 8) Nakanuma Y, Tsuneyama K, Gershwin ME, Yasoshima M. Pathology and immunopathology of primary biliary cirrhosis with emphasis on bile duct lesions: recent progress. *Semin Liver Dis* 15: 313-328, 1995
- 9) Nakanuma Y, Tsuneyama K, Kono N, Hosono M, Van de Water J, Gershwin ME. Biliary epithelial expression of pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis: an immunohistochemical and immunoelectron microscopic study. *Hum Pathol* 26: 92-98, 1995
- 10) Sasaki M, Nakanuma Y. Frequent expression of MUC1 apomucin on biliary epithelial cells of damaged small bile ducts in primary biliary cirrhosis and chronic viral hepatitis: an immunohistochemical study. *Hepatology* 23: 1313-1317, 1996
- 11) Kosco MH, Schmid R, Gray D. Follicular dendritic cells and germinal center formation *in vitro*. In Racz P, Dijkstra CD, Gluckman JC (eds), *Accessory Cells in HIV and other Retroviral Infections*, 9th ed, p44-49, Karger, Basel, 1991
- 12) Lu L, Rudert WA, Qian S, McCaslin D, Fu F, Rao AS, Trucco M, Fung JJ, Starzl TE, Thomson AW. Growth of donor-derived dendritic cells from the bone marrow of murine liver allograft recipients in response to granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* 182: 379-387, 1995
- 13) Lu L, McCaslin D, Starzl TE, Thomson AW. Bone marrow-derived dendritic cell progenitors (NLDC 145+, MHC class II+, B7-1dim, B7-2-) induce alloantigen-specific hyporesponsiveness in murine T lymphocytes. *Transplantation* 60: 1539-1545, 1995
- 14) Steinman RM. Dendritic cells. *Transplantation* 31: 151-155, 1981
- 15) Steinman RM, Inaba K, Schuler G. Contributions of dendritic cells, mechanisms of host resistance to infectious agents, tumors, and allografts. In Steinman RM, North RJ (eds), *Stimulation of the Immune Response*, 1st ed, p71-97, Rockefeller University Press, New York, 1986.

- 16) Tew JG, Kosco MH, Burton GF, Szakal AK. Follicular dendritic cells as accessory cells. *Immunol Rev* 117: 185-211, 1990
- 17) Wood GS, Turner RR, Shiurba RA, Eng L, Warnke RA. Human dendritic cells and macrophages. *In situ* immunophenotypic definition of subsets that exhibit specific morphologic and microenvironmental characteristics. *Am J Pathol* 119: 73-82, 1985
- 18) Franklin WA, Mason DY, Pulford K, Falini B, Bliss E, Gatter KC, Stein H, Clarke LC, McGee JO. Immunohistological analysis of human mononuclear phagocytes and dendritic cells by using monoclonal antibodies. *Lab Invest* 54: 322-335, 1986
- 19) Hancock WW, Atkins RC. Immunohistologic analysis of the cell surface antigens of human dendritic cells using monoclonal antibodies. *Transplant Proc* 16: 963-967, 1984
- 20) Freeman GJ, Gribben JG, Boussiotis VA, Ng JW, Restivo VJ, Lombard LA, Gray GS, Nadler LM. Cloning of B7-2: a CTLA-4 counter-receptor that costimulates human T cell proliferation. *Science* 262: 909-911, 1993
- 21) Freeman GJ, Borriello F, Hodes RJ, Reiser H, Gribben JG, Ng JW, Kim J, Goldberg JM, Hathcock K, Laszlo G, Lombard LA, Wang S, Gray GS, Nadler LM, Sharpe AH. Murine B7-2, an alternative CTLA4 counter-receptor that costimulates T cell proliferation and interleukin 2 production. *J Exp Med* 178: 2185-2192, 1993
- 22) Bluestone JA. New perspectives of CD28-B7-mediated T cell costimulation. *Immunity* 2: 555-559, 1995
- 23) Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, Azuma M, Okumura K, Lanier LL, Banchereau J. B70/B7-2 is identical to CD86 and is the major functional ligand for CD28 expressed on human dendritic cells. *J Exp Med* 180: 1841-1847, 1994
- 24) Jenkins MK. The ups and downs of T cell costimulation. *Immunity* 1: 443-446, 1994
- 25) June CH, Bluestone JA, Nadler LM, Thompson CB. The B7 and CD28 receptor families. *Immunol Today* 15: 321-331, 1994
- 26) 厚生省「難治性の肝炎」調査研究班. 原発性胆汁性肝硬変診断基準. 1992
- 27) Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 19: 1513-1520, 1994
- 28) Ludwig J, Dickson ER, McDonald GS. Staging of chronic nonsuppurative destructive cholangitis (syndrome of primary biliary cirrhosis). *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 379: 103-112, 1978
- 29) Nakanuma Y, Sasaki M. Expression of blood group-related antigens in the intrahepatic biliary tree and hepatocytes in normal livers and various hepatobiliary diseases. *Hepatology* 10: 174-178, 1989
- 30) Nakanuma Y, Ohta G. Histometric and serial section observations of the intrahepatic bile ducts in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 76: 1326-1332, 1979
- 31) Nakanuma Y, Karino T, Ohta G. Orcein-positive granules in the hepatocytes in chronic cholestases; morphological, histochemical and electron X-ray microanalytical examination. *Virchow Arch A Pathol Anat Histol* 382: 21-30, 1979
- 32) 厚生省「難治性の肝炎」調査研究班. 自己免疫性肝炎診断基準. 1992
- 33) Gerdes J, Naiem M, Mason DY, Stein H. Human complement (C3b) receptors defined by a mouse monoclonal antibody. *Immunology* 45: 645-653, 1982
- 34) Peters JH, Xu H, Steinhausen F, Ruppert J. A novel monoclonal antibody directed against human accessory cells in lymphoid cells in lymphoid organs. *In 7th International Congress Immunology*, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 1989
- 35) Azuma M, Ito D, Yagita H, Okumura K, Phillips JH, Lanier LL, Somoza C. B70 antigen is a second ligand for CTLA-4 and CD28. *Nature* 366: 76-79, 1993
- 36) Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29: 577-580, 1981
- 37) Bach N, Thung SN, Schaffner F. The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis: a comparative analysis. *Hepatology* 15: 572-577, 1992
- 38) Vyberg M. The hepatitis-associated bile duct lesion. *Liver* 13: 289-301, 1993
- 39) Kumon I. *In situ* characterization of mononuclear cell phenotype in intrahepatic lymphoid follicles in patients with chronic viral hepatitis. *Gastroenterol Jpn* 27: 638-645, 1992
- 40) Van Voorhis WC, Hair LS, Steinman RM, Kaplan G. Human dendritic cells. Enrichment and characterization from peripheral blood. *J Exp Med* 155: 1172-1187, 1982
- 41) Knight SC, Krejci J, Malkovsky M, Colizzi V, Gautam A, Asherson GL. The role of dendritic cells in the initiation of immune responses to contact sensitizers. I. *In vivo* exposure to antigen. *Cell Immunol* 94: 427-434, 1985
- 42) Inaba K, Steinman RM. Resting and sensitized T lymphocytes exhibit distinct stimulatory (antigen-presenting cell) requirements for growth and lymphokine release. *J Exp Med* 160: 1717-1735, 1984
- 43) Hino K, Okuda M, Konishi T, Yamashita A, Kayano K, Kubota M, Yasunaga M, Fukumoto Y, Okita K. Analysis of lymphoid follicles in liver of patients with chronic hepatitis C. *Liver* 12: 387-391, 1992
- 44) Agnello V, Chung RT, Kaplan LM. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 327: 1490-1495, 1992
- 45) Mishiro S, Hoshi Y, Takeda K, Yoshikawa A, Gotanda T, Takahashi K, Akahane Y, Yoshizawa H, Okamoto H, Tsuda F, Peterson DA, Muchmore E. Non-A, non-B hepatitis specific antibodies directed at host-derived epitope: implication for an autoimmune process. *Lancet* 336: 1400-1403, 1990
- 46) 鍛治恭介, 西村浩一, 坂本 徹, 竹内正勇, 寺崎修一, 下田 敦, 卜部 健, 松下栄紀, 金子周一, 鶴浦雅志, 小林健一, 中沼安二. 自己免疫型の病型を示し, インターフェロン治療が有効であったC型慢性肝炎の1症例. *肝臓* 33: 872-876, 1992
- 47) Matsumoto M, Hsieh TY, Zhu N, VanArsdale T, Hwang SB,

- Jeng KS, Gorbaleña AE, Lo SY, Ou JH, Ware CF, Lai MM. Hepatitis C virus core protein interacts with the cytoplasmic tail of lymphotoxin-beta receptor. *J Virol* 71: 1301-1309, 1997
- 48) 城 知宏, 関 寿人, 中川泰一, 奥野裕康, 井上恭一, 岡村明治, 青山圭一, C型慢性肝炎におけるリンパ濾胞形成およびDendritic Reticulum Cell (DRC)の意義. *肝臓* 34: 60-61, 1993
- 49) Nouri Aria KT, Sallie R, Sangar D, Alexander GJ, Smith H, Byrne J, Portmann B, Eddleston AL, Williams R. Detection of genomic and intermediate replicative strands of hepatitis C virus in liver tissue by *in situ* hybridization. *J Clin Invest* 91: 2226-2234, 1993
- 50) Yamada G, Hyodo I, Tobe K, Mizuno M, Nishihara T, Kobayashi T, Nagashima H. Ultrastructural immunocytochemical analysis of lymphocytes infiltrating bile duct epithelia in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 6: 385-391, 1986
- 51) Rontogianni D, Gerber H, Zimmermann A. Primary biliary cirrhosis (PBC): antigen-presenting cells differ in their distribution in early and late stage PBC and involve the ductal, but not the ductular compartment. *Histol Histopathol* 9: 211-220, 1994
- 52) Okamoto H, Sugiyama Y, Okada S, Kurai K, Akahane Y, Sugai Y, Tanaka T, Sato K, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis C virus by polymerase chain reaction with type-specific primers: application to clinical surveys and tracing infectious sources. *J Gen Virol* 73: 673-79, 1992

Immunopathological Study of Hepatic Bile Duct Injuries of Chronic Hepatitis C in Comparison with Primary Biliary Cirrhosis Kyosuke Kaji, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — *J. Juzen Med Soc.*, **107**, 312 — 323 (1998)

Key words chronic hepatitis C, hepatic bile duct injury, primary biliary cirrhosis, chronic nonsuppurative destructive cholangitis

Abstract

Hepatic bile duct injury is a characteristic feature of chronic hepatitis C, but the mechanism of this lesion remains obscure. These bile duct injuries appear to resemble chronic nonsuppurative destructive cholangitis (CNSDC) in primary biliary cirrhosis (PBC). In this study, the pathological and immunopathological features were examined in 149 cases of chronic hepatitis C. Hepatic bile duct injuries were found in 40% (60/149) of chronic hepatitis C, and in 17% (3/18) of chronic hepatitis B patients. This phenomenon was frequently found related to lymphoid aggregation in portal tracts, suggesting that hepatic bile duct injury may be due to some immunological mechanism. The distribution of immunocompetent cells around the injured bile ducts was then surveyed, especially that of the dendritic cells, which are thought of as professional antigen presenting cells. First, two kinds of dendritic cells, follicular dendritic cells (FDC), which present antigens mainly to B cells, and interdigitating dendritic cells (IDC), which present to T cells, were examined immunohistochemically. In addition, immunocompetent cells with B7-2 molecules, a costimulatory factor which is known to be necessary to present antigens, were also studied. FDC, which formed a meshwork pattern in the portal tracts, were observed in 41% of chronic hepatitis C, and in 10% of PBC cases ($p < 0.001$). A marked density of IDC in portal tracts was observed in 12% of chronic hepatitis C, and in 19% of PBC cases (not statistically significant). In PBC, the frequency of IDC decreased according to the progression of the disease stages, whereas in chronic hepatitis C, no such tendency was observed. B7-2 positive cells were scattered in portal tracts, and we could find B7-2 positive cells which were in direct contact with damaged bile ducts in PBC. B7-2 positive cells were observed more frequently (41%) in PBC than in chronic hepatitis C (17%) ($p < 0.05$). In stage 4 of PBC, there were no cases with more than moderate density of B7-2 positive cells. The hepatic bile duct injuries were not associated with bile duct loss, whereas CNSDC of PBC was variably associated with bile duct loss. These findings suggest that hepatic bile duct injury has a close relation with lymphoid follicles and infiltrating cells around the injured bile ducts, and that the mechanism of this lesion is different from that of CNSDC of PBC despite their histological resemblance.