

厚生省特定疾患難治性の肝疾患調査研究班

平成十年度 研究報告

目 次

総括報告	1
------------	---

分科会長 小 俣 政 男

I. 自己免疫性肝疾患

平成十年度自己免疫性肝疾患 総括.....	7
東京慈恵会医科大学第一内科 戸 田 剛太郎	
1. ①自己免疫性肝炎に関する第2次調査結果報告(平成9年度全国調査最終報告)	8
②高分化型肝癌細胞と樹状細胞の融合細胞移入による自己免疫性肝炎モデルの作製	12
東京慈恵会医科大学第一内科 戸 田 剛太郎	
2. AIH type2患者のCYP2D6遺伝子型の解析	17
大阪市立大学医学部第三内科 黒 木 哲 夫	
3. 自己免疫性肝炎患者のHLA-DR解析と治療	20
岡山大学医学部第一内科 辻 孝 夫	
4. 自己免疫性肝炎における肝細胞傷害機構 ーリンパ球におけるbcl-2の発現およびcostimulatory分子の関与ー	23
香川医科大学第三内科 西 岡 幹 夫	
5. 劇症肝炎モデルにおけるTNF- α による肝細胞死の抑制	26
大阪大学大学院医学系研究科分子制御治療学 林 紀 夫	
6. B型肝炎ウイルストランスジェニックマウスにおけるHBs抗原特異的CTLの免疫学的寛容と 骨髓由来樹状細胞による活性化	29
富山医科薬科大学医学部第三内科 渡 邊 明 治	
7. 内在性抗原提示と免疫識別の分子機構	31
東京都臨床医学総合研究所化学療法研究部門 田 中 啓 二	

II. 原発性胆汁性肝硬変

平成十年度原発性胆汁性肝硬変 総括.....	35
関西医科大学第三内科 井上 恭一	
1. 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) 全国調査結果 (第19報)	35
関西医科大学第三内科 井上 恭一	
2. PBCの病態に及ぼす樹状細胞 (DC) の役割	41
愛媛大学医学部第三内科 恩地 森一	
3. ①ヒトおよびマウスサイトケラチン19プロモーター領域のクローニングと プロモーター活性の検討	43
②マウスPDC-E2 cDNAのクローニング	50
金沢大学医学部第一内科 小林 健一	
4. 原発性胆汁性肝硬変におけるT細胞の解析およびサイトケラチン7 (CK7) を用いた 進行度判定	51
岡山大学医学部第一内科 辻 孝夫	
5. Concanavalin A 誘発マウス肝炎モデルにおける免疫学的肝細胞障害発症機序と 性差の検討	54
旭川医科大学第二内科 牧野 勲	

Ⅲ. 劇症肝炎

平成十年度劇症肝炎 総括	61
岩手医科大学第一内科 佐藤 俊一	
1. ①劇症肝炎およびLOHFの全国調査	62
②劇症肝炎および急性肝炎重症型の予後に関するprospective study	67
③劇症肝炎の成因と病態に関する検討	
(1) 当科における劇症肝炎の成因ウイルスの再検討	69
(2) 劇症肝炎における血清TNF α およびTNF受容体-1の動態： 重症度および予後との関連	72
岩手医科大学第一内科 佐藤 俊一	
2. 肝炎の重症度に関する免疫学的因子の解析と免疫学的治療について	74
愛知医科大学第一内科 各務 伸一	
3. 劇症肝炎患者におけるTh1/Th2-associated cytokine imbalance (臨床的検討)	79
山口大学医学部第一内科 沖田 極	
4. 劇症および急性B型肝炎におけるCTLエピトープの同定の試み	81
熊本大学エイズ学研究センターウイルス制御分野 滝口 雅文	
5. ①非A非B非C型急性肝不全におけるHBVの関与	82
②HGFによるTPO mRNAの発現誘導	84
宮崎医科大学第二内科 坪内 博仁	
6. HBV既感染患者におけるHBVの存在様式	88
京都府立医科大学第三内科 岡上 武	
7. PCR in situ hybridization法を用いたB型肝炎ウイルスの組織内局在の解析	89
東京都臨床医学総合研究所放射線医学研究部門 小原 道法	
8. 劇症及び急性A型肝炎患者血清由来のA型肝炎ウイルスの全塩基配列の解析	91
千葉大学医学部第一内科 横須賀 收	
9. 非A非B非C型劇症肝炎患者の肝組織中の肝炎ウイルスとヘルペスウイルス族の検出と その臨床的意義	94
東京女子医科大学附属消化器病センター消化器内科 林 直諒	
10. 劇症肝炎におけるTTV感染の関与	99
昭和大学医学部第二内科 三田村 圭二	
11. 広汎肝壊死の成立機序：マクロファージの肝浸潤における オステオポンチンを介したchemokine network	105
埼玉医科大学第三内科 藤原 研司	
12. 劇症肝炎における人工肝補助療法の適応と限界の再評価：神奈川・東京多施設検討	107
帝京大学医学部附属溝口病院第四内科 賀古 眞	
13. ①劇症肝炎発症における肝細胞アポトーシスとsensitization機構に関する研究	109
②バイオ人工肝の開発	110
岐阜大学医学部第一内科 森脇 久隆	
14. B型劇症肝炎とMannose-binding protein値・変異との関連	113
自衛隊中央病院内科 箱崎 幸也	
15. 呼気中アンモニア測定装置の開発	118
富山医科薬科大学医学部第三内科 渡邊 明治	
16. 劇症肝炎の予知と阻止	120
昭和大学藤が丘病院内科 与芝 真	

IV. 難治性肝疾患の治療

平成十年度難治性肝疾患の治療 総括.....	129
東京大学大学院医学系研究科消化器内科 小 俣 政 男	
1. 急性肝障害モデルにおけるTGF β の情報伝達機構に関する検討	129
関西医科大学第三内科 井 上 恭 一	
2. AFP産生肝癌選択的な増殖と細胞傷害効果を持つアデノウイルスによる肝癌遺伝子治療	135
東京大学大学院医学系研究科消化器内科 白 鳥 康 史	
3. 当施設における成人生体部分肝移植例の解析とその適応について	135
岡山大学医学部第一内科 辻 孝 夫	
4. わが国における成人生体肝移植の成績と問題点	140
新潟大学医学部第三内科 市 田 隆 文	
5. 成人例生体部分肝移植の問題点—小児例と比較して—	143
東京大学大学院医学系研究科肝胆脾外科、人工臓器移植外科 幕 内 雅 敏	
6. 生体肝移植の成人への適応拡大に関する研究	149
京都大学大学院医学研究科移植免疫医学 田 中 紘 一	

総括報告書

厚生省特定疾患難治性の肝疾患調査研究班 平成十年度総括報告

分科会長 小 俣 政 男

I. 研究目的

本研究班の目的は、本邦における難治性の肝炎とその近縁疾患（自己免疫肝疾患、原発性胆汁性肝硬変、劇症肝炎、肝移植とともに肝癌等に対する遺伝子治療の開発を目指す治療）の実態を調査し、その成因、発症機序、病態の解明を通して、あらたな診断基準の設定と治療法の開発、体系化を目指すことにある。これら疾患の全国調査を定期的実施し診断基準や治療指針の改訂と、本邦における疾患の病態の変遷を明らかにする。

II. 研究方法

1) 自己免疫性肝疾患

疫学：全国実態調査の継続と診断基準案の再評価、疾患の予後調査、Sib-studyの対象症例の登録・成因、機序の解明：自己免疫機序の解明

治療：免疫抑制剤による治療効果の検定

2) 原発性胆汁性肝硬変（PBC）

疫学と予後調査：全国実態調査の継続、生命予後モデルの検討と新たな予後モデルの作成、肝移植適応の予測モデルの作成

成因、機序の解明：自己免疫機序の解明、T細胞レセプターレパトアの解析、自己抗体の疾患特異性の検討

治療：ウルソデオキシコール酸（UDCA）作用機序の解明、UDCA治療の長期予後の検討、肝移植への適応の基準

3) 劇症肝炎

疫学：全国実態調査の継続と重症肝炎登録システムの構築、原因ウイルスの特定と予後の調査

成因、機序の解明：原因ウイルスの特定、肝炎劇症化発症機序の解明と進展防御、肝再生の機序

治療：新たな治療法の開発、人工肝臓の開発、肝移植の時期と適応

4) 治療

肝移植の適応、肝移植後のQOL調査：成人肝移植の適応疾患とその背景調査

肝移植の基礎的検討：生体部分肝移植のグラフトサイズの検討

遺伝子治療の基礎的検討：ベクターの開発、腫瘍に対する特異的導入遺伝子の検討

III. 研究成果

1) 自己免疫性肝疾患

疫学：前回（1996年）自己免疫性肝炎の診断基準の改訂を行ない国際的診断基準との適合性を図ったうえで、自己免疫性肝炎の診断の再評価と病態の変遷、成因、治療方針の解明のため、平成7年以降の症例に関する全国調査を平成9年に施行し、今年度、その解析と2次調査をおこなった。登録症例413症例の集計がなされ（男女比1：6.2、平均年齢・54.2才）、とくに60才以上が38%を占めた。抗核抗体は394例で陽性、20例では陰性であった。HCV関連自己免疫性肝炎と考えられるものは27例（7%）と診断基準改

訂後は著しく減少していた。死亡例は7例あり、その平均年齢は74才と高齢者多く、その死因は肝不全3例と治療開始の遅れが2例であった。急性重症発症例は7例に認められた、内3例は自己抗体陰性であった。このような検討から、自己抗体陰性の高齢者の本症例の発症では、その診断および治療に充分配慮する必要性が指摘された。

治療：今回の調査から、ステロイドは94%の症例で有効であり、いままでの87%の報告に比べて高くなっており、前回の診断基準の改訂に示した治療指針が有効であること、また、ひろく治療法に関しては治療指針により徹底が図られていることを証明しているものと思われた。ステロイド無効例は7例のみであり、5例は重症例でHCV陽性であった。また、軽症例ではUDCAの投与が増加しており、その有効率は約60-80%であることが示された。

成因、機序の解明：内在性抗原提示と免疫識別の分子機構としては“免疫プロテアソーム”と“ハイブリッド型プロテアソーム”が特別研究員より発見され、内在性抗原プロセッシングの分子機構が解明されたことである。プロテアソームが内在性抗原のプロセッシング酵素としてMHCクラスIリガンド生成を担っている機構のなかで、ガンマ型インターフェロンが触媒サブユニット群の分子内置換を誘導して“免疫プロテアソーム”を造成し、効果的な抗原ペプチドの造成に寄与し、プロテアソーム活性化因子PA28が抗原プロセッシング反応に関与していた。

2) 原発性胆汁性肝硬変 (PBC)

疫学：1997年度には第9回全国調査（1995-1996年発症の新規症例登録）を施行し、新規症例765例が登録され、全登録症例は3673例となった。同時に行なわれた既登録追跡調査症例は1761例（回収率73%）におよんだ。今年度は、これらの解析とその後の2次調査を施行した。今回の予後追跡調査では1990年以降の年次死亡数は20例以下であり、死因での消化管出血の割合は著しく減少していた。

本邦における本疾患の病態と予後の年代の変遷を推測するため、1989年までに診断された症例（940例）と1990年以降に診断された症例（978例）に分類したうへ、その予後指数から1991年に作成した予後モデルを用いて比較したところ、後期群症例は前期群症例にくらべ優位に高い生存率を示した。さらに、診断時T.Bil 2mg/dl以上であった症候性PBC（臨床病期S2）379例を対象として、年代別予後の変化についての検討を行なった。診断時T.Bil 2mg/dl-8mg/dlで組織病期I、II（Scheuer分類）では、1989年までに診断された症例にくらべ1990年以降に診断された症例では生存率の改善が認められたが、T.Bilが8mg/dl以上で組織病期III、IV（Scheuer分類）の症例では生存率の改善はなく、これらは肝移植の適応と考えられた。

成因、機序の解明：原発性胆汁性肝硬変の発症機序に関しては、リンパ性樹状細胞の機能異常の関与が明らかにされた。胆管病変成立には胆管上皮細胞におけるPDC-E2の発現モデル作製のための胆管上皮特異的promotorの解析された。

3) 劇症肝炎

疫学と成因：研究班全国調査では、平成9年度の劇症肝炎並びにLOHF（late onset hepatic failure；亜急性型）の実態調査を施行した。登録症例は104例であり、劇症肝炎患者は減っていない。うちわけは急性型40%で、亜急性型は60%で、病型による予後は急性型の生存率40%に対して亜急性型は15%であった。当該年度から新たにB型疑いを加えた。その結果、A型肝炎ウイルス感染3%、B型肝炎ウイルス感染32%、B型疑い18%、非A非B型27%、薬剤性は10%であった。この結果、B型肝炎ウイルス関連は40%以上に及んでいることが明らかにされた。ことにIgMHBc（+）B型を示す45%は性行為感染で、IgMHBc（-）B型を示す60%はキャリアからの発症であった。

分子生物手法による成因の解析：多施設で非A非B型劇症肝炎の成因を明らかにするため血液中、肝組織中のウイルスの検索を様々なプライマーを用いて行った。これらの約5-7割にB型肝炎ウイルスが検出された。また、一部症例ではヘルペスウイルス（HHV-6）の関与が示された。さらに、PCR-in situ hybridization法を用いたHBVの組織内局在の解析が可能となった。

近年、重症劇症肝炎での頻度が増しているA型肝炎の重症化劇症化とウイルス側因子との関連を検討したところ、A型肝炎の重症化とHAVの5'非翻訳領域(5'NTR)、2B領域での変異との関連が明らかにされた。

急性重症肝炎登録システムの施行：当該年度、とくに特記すべきことは、急性重症肝炎登録システムの施行に入ったことである。施行後12ヶ月で88例(劇症肝炎22例、急性肝炎重症型66例)が登録された。

劇症肝炎22例は急性型15例、亜急性型7例であり、本研究班が平成5年に作成した武藤の予後予測式の死亡予測精度の感度91%、特異度46%、正診率68%であった。急性肝炎重症型66例のうち19例が劇症化した。与芝らの予後予測式の劇症化予測精度の感度88%、特異度27%、正診率43%であった。武藤の予後予測式や与芝らの劇症化予後予測式はエンドポイントからレトロスペクティブに作成したため感度には優れているが、特異度と正診率に関しては不十分であることが示された。このため登録されたこのシステムを用いて、新たに劇症化予測因子の解析、予後予測因子の解析を多重ロジスティックモデルで検討した。その結果、有意説明変数として年齢、血清総ビリルビン値、プロトロンビン値が選択され、このうえで劇症化予測式を作成したところ感度53%であったが特異度96%、正診率83%と実際の予後予測に有効であることが示された。

肝炎劇症化の機序：肝炎劇症化や細胞死の病態解明で特筆すべき研究は、劇症肝炎ウイルス特異的CTLとCTLエピトープの解析である。肝炎ウイルス特異的CTLとCTLエピトープをリバーシムノゲネティック法で解析したところHBVアミノ酸配列から日本人の約7割がもつHLA-A24結合モチーフに合致するペプチドを検索したところ60ペプチド見いだされた。これら合成ペプチドのうちコア蛋白由来の2ペプチド、Pタンパク由来の2ペプチドでHBV特異的CTLの誘導が明かにされた。また、Alu配列を用いたB型肝炎ウイルスの宿主細胞への組み込みが開発され、感染早期からB型肝炎ウイルスの組み込みが示された。マクロファージやオステオポンチンなどのサイトカインの関与、各種線溶系機構が解析された。

肝再生：肝再生に係わるHGF、HGF関連遺伝子の発現の検討から、HGF活性化とHGF activator活性との関連、HGF/EGFの肝再生における情報伝達系(Ras、MAP、MAPK)の解析から、CCI4肝障害ではこれら情報伝達系の活性化がみられた。また、トロンボポイエチンの調節因子であることも指摘された。

治療：現時点ではG-I療法、血漿交換、特殊アミノ酸療法が主体で、さらに血液透析の併用施行例が増加している現状が明らかになった。93-97年の5年間では451例が集計され、救命率は急性型44%、亜急性型12%、全体で27%であり、救命率は83-87年、88-92年の各5年間と比べて急性型の救命率が改善した。しかしながら、亜急性型では10%台であり、治療法の新たな改善進展の必要性が示された。

4) 治療 - 肝移植、遺伝子治療 -

肝移植の適応疾患とその背景調査、肝移植後のQOL調査：当該年度期間、肝移植に関しては、本邦における成人肝移植例の現状把握を行った。肝移植研究会の把握している日本人の肝移植症例は180例余りに及んでいた。肝移植に至る原疾患は、原発性胆汁性肝硬変を含む肝硬変、劇症肝炎を含む急性肝不全、その他先天性代謝異常で、とくに1995年以降急速に増加傾向にあることが明らかにされた。本邦で施行された劇症肝炎、PBCに対する生体肝移植に関する報告から、サイズミスマッチの克服のための自己肝温存部分移植の試みや右葉グラフトの応用が示された。

また、成人に対する肝移植後の予後、Quality of Life (QOL)を調査したところ、原疾患が胆道閉鎖症例、先天性代謝異常例、劇症肝炎例、原発性胆汁性肝硬変であった症例の予後は5年生存率80%以上であったが、B型肝炎肝硬変や肝癌症例での移植ではB型肝炎の重症化、癌再発のため予後は極めて悪いことが判明したが、特異抗体(HBIG)やLamivudineなどの抗ウイルス剤によるウイルス抑制により予後の改善が図られてきた。

肝移植の基礎的検討：本邦では死体肝からの移植が難しいことから、生体部分肝移植の適応の拡大のためグラフトサイズ適合の検討が示された。

肝癌に対する遺伝子治療の基礎的検討：ベクター、導入遺伝子の検討 - 遺伝子治療として、腫瘍細胞内

への特定の遺伝子導入にはレトロウイルス、アデノウイルスなどによるウイルス感染や癌細胞のレセプターを介した導入が試みられ、実験モデルでは有効な治療法との成績が示された。

腫瘍に対する特異的な導入遺伝子発現の検討：選択的な導入遺伝子発現にあたり癌に特異的に見られる蛋白のプロモーターによる制御と薬剤耐性克服への試みが示された。

今後の課題と目標としては、自己免疫性肝炎では、自己免疫性肝炎の診断の再評価と病態の変遷、成因、治療方針の解明のため、継続した全国調査が必要であり、本邦における病態の頻度と予後を検討するうえでも重要である。ことに急性重症発症例は7例に認められた、3例は自己抗体陰性であった。このため、自己抗体陰性の高齢者の本症例の発症では、その診断および治療にあたっての調査検討の必要性が指摘された。さらに、同胞発症例は6家系に認められ、今後のSib-studyとして重要な家系として登録し、次年度以降の追跡調査と免疫学的検討を行なう予定である。

原発性胆汁性肝硬変（PBC）の全国調査では、全登録症例は3673例となり、同時に行なわれた既登録追跡調査症例は1761例におよんだ。今後も本邦における本疾患の病態と予後の年代的変遷を推測するため、定期的調査の重要性が示された。これらを用いた予後モデルの検討は疾患の病態の変遷を明かにするうえで重要であると共に、時代に即した肝移植の適応モデルの作成が今後の問題点と考えられ、次年度の研究目標と考えられた。

劇症肝炎では、昨年度より施行した重症肝炎登録システムを用いて、新たに劇症化予測因子の解析、予後予測因子の解析、有効な治療法の解析を詳細に検討していく必要がある。さらに、B型劇症肝炎では抗凝固療法、サイクロスポリン、インターフェロン療法の有効性はこれら重症肝炎登録システムでの解析が可能となることが中間報告として示され、現在、このシステムを用いて有効な治療法の解析を検討している。次年度以降、これらのプロスペクティブな登録システムを解析することにより有効な治療法の選択が可能となることが期待される。また、血液などの登録時に採取、回収し登録事務局で保存されており、今後、班全体として成因ウイルスなどの統一測定に用いる予定である。

肝移植の領域では成人における生体肝移植の増加に伴い、B型肝炎ウイルス抗体陽性例ドナーからの肝移植によるB型肝炎ウイルス再感染も指摘され、あらためて調査するとともに、症例数が限られているため全国レベルで共通の治療法や予防法の開発調査が長期的視点からみて重要であると考えられ、次年度以降の研究目標と考えられた。また、遺伝子治療においても着実の進展が期待される。

また、全領域にわたり疾患の成因、機序の解明のためには幅広い基礎研究者と臨床研究者の共同研究が次年度以降の研究進展に重要である。

I. 自己免疫性肝疾患

平成十年度 自己免疫性肝疾患報告（総括）

戸田剛太郎

全国調査

平成9年度調査の昨年度報告は、登録患者数394例に関する調査結果であった。しかし、その後追加登録があり、平成9年度全国調査による最終的に新規自己免疫性肝炎（AIH）患者数は80施設413例となった。さらに、治療効果に関してプレドニゾロン（PSL）無効例とウルソデオキシコール酸（UDCA）単独投与例、予後に関連して死亡例、急性発症例、特殊例として抗核抗体（ANA）、抗平滑筋抗体（ASMA）陰性例については2次調査を行った。

男女比、年齢分布、抗核抗体（ANA）陽性率、プレドニゾロン（PSL）有効率、予後、死因は昨年度報告と大きな差はみられなかった。以下、2次調査の結果を総括する。ANA、ASMA陰性例が7例あったが、このうち第2次調査の解答が得られたのは5例であった。うち2例が男性で、平均ALTは846IU/Lで、ALPは340IU/Lであった。また、5例中3例が急性発症例で、自己抗体については1例が抗ミトコンドリア抗体陽性であった以外、現在、日常検査で測定されている自己抗体はいずれも陰性であった。PSL投与無効例は7例（1.7%）存在し、2次調査で解答の得られた6例のPSL無効例は、平均発症63.8歳と高齢傾向があり、ANA中央値は640と高く、ALTは651±884IU/Lであった。その内訳は、治療開始遅延症例が2例（1例はSNMC治療、1例は無治療で経過観察）で、ともに重症化し死亡。急性発症重症例が2例、内1例が死亡、1例はサイクロスポリンにて改善を認めていた。さらに、2例はHCV陽性例で、PSL使用し無効と判定後UDCA、SNMCにてトランスアミナーゼの低下を認めている。UDCAの単独投与は33例が行われ、ALTの完全正常化を著効とすると20例60.6%で著効、治療後のALT値は平均23IU/Lであった。著効例は高年齢、女性優位傾向を認めたが、ともに有意差はなかった。また、治療前ALT値は無効群で254±355IU/L、著効群で199±213IU/Lと、著効群でALT値は低い傾向にあったが、有意差は認めなかった。死亡は7例（1.7%）で平均年齢73.6歳と高齢者に多く、その死因は肝不全によるもの5例、肺炎等の感染症合併によるもの2例であった。急性発症例（重症型）は7例（1.7%：死亡1例を含む）で、平均発症年齢は44.9歳、平均ALT値は905IU/Lで、抗核抗体力価は低値あるいは陰性の症例が多くみられた（戸田剛太郎分科会員）。

個別研究

自己免疫性肝炎患者のHLA解析：わが国のAIH患者ではHLA-DR4が高頻度に見られ、DR-4はAIH発症の危険因子の一つと考えられる。AIH患者におけるHLA-DR4のsubtypeをdirect sequence法により解析するとHLA-DR4陽性AIH患者18例中15例（83.3%）がHLA-DRB10405陽性であった。しかし、C型慢性肝炎患者でも24例中16例（66.7%）がHLA-DRB10405陽性であり、従来の報告のようにAIHに特異的なgenotypeは現時点では見出されなかった（辻孝夫研究協力者）。

LKM-1抗体：疑診以上のAIH45例中5例、C型慢性肝炎200例中4例にELISA法によりLKM-1抗体が検出されたが、immunoblotting法により陽性を示したのはAIH症例の1例のみであった。本例はCYP2D6によって代謝を受ける薬物が原因で薬物性肝障害を発症し、その後AIHへと移行したと考えられる症例である。本性例の血清はミクロソームによるbufuralol代謝を阻害した。また、CYP2D6遺伝子型をPCR-RFLP法を用いて遺伝子異常の有無を検索すると、全欠損型を片側に認めた。本例は臨床症状からpoor metabolizerと推定されることから、残存している対立遺伝子の遺伝子変異について、すべてのエクソンとエクソン/イントロン結合部の塩基配列を解析中である。LKM-1抗体の出現機序、AIHの発症機序を考える上で興味深い症例である（黒木哲夫研究協力者）。

肝細胞障害機序：AIH患者の末梢血リンパ球、肝浸潤リンパ球では、C型慢性肝炎患者と比較してbc1-2の発現亢進がみられ、末梢血リンパ球のbc1-2発現強度はAST、ALTレベルと有意の正の相関を示した。このことはbc1-2陽性細胞が肝細胞障害と密接な関連を持っていることを示している。bc1-2陽性細胞は主としてCD4陽性T細胞であり、インターフェロングamma産生能を有しているところからTh1タイプの細胞と考えられた。AIHではアポトーシスにより排除されるべき自己反応性T細胞が残存し、肝細胞障害に関わっていると想定される（西岡幹夫研究協力者）。

AIH動物モデル：AIHの肝細胞障害機序の解明には動物モデルの開発が必要である。しかし、AIHの適切な動物モデルがないのが現状である。そこでpolyethyleneglycol存在下に作製した、C57BL/6マウス骨髄由来樹状細胞（DC）と同系高分化型肝癌hepal-6との融合細胞を同系マウスの皮下に注射した後、IL-12を追加投与することにより肝細胞障害誘導を試みた。IL-12投与群では血清ALTレベルの上昇、またIL-12非投与群と比較して小葉内により高度の単核球浸潤を伴う肝細胞障害像がみられた。本モデルは疾患特異的自己抗原の同定を含めたAIHの病態解明に有用と考えられた（戸田剛太郎分科会員）。

治療：自己免疫性肝炎に対するプレドニゾロン（PSL）

投与の有効性は数次にわたる全国集計から明らかにされている。しかし、PSL無効例、治療抵抗例、副作用のために使用を中止せざるを得ない症例、PSL投与中にも関わらず再燃する症例も存在する。このような症例14例に対してPSL) /アザチオプリン (AZP) 併用療法を試み、13例において有効であった。AZPの副作用は認められなかった(辻孝夫研究協力者)。

その他：林紀夫研究協力者は肝切除後Balb/cAマウスを用いて、肝再生過程においてFasレセプター後のシグナル伝達機構が抑制されており、その一部にTNF- α およびIL-1 β が関与していた。また、TNF- α およびIL-1 β はFasシステムによる肝細胞死を抑制し、マウス劇症肝炎モデルの生存期間を延長することが明らかになった。渡辺研究協力者はHBVトランスジェニック (Tg) マウス (B型慢性肝炎患者と同様、HBs抗原特異的CTLは寛容状態となっている) において、活性化樹状細胞による抗原提示によって免疫寛容状態のHBs抗原特異的CTLが誘導されることを示し、B型慢性肝炎においても同様の手法により、抗ウイルスCTL反応を誘導できる可能性を示した。田中啓二研究協力者はガンマ型インターフェロンが触媒サブユニット群の分子内置換を誘導して“免疫プロテアソーム”を造成し、効果的な抗原ペプチドの造成に寄与すること、さらにこのサイトカインによって誘導されるプロテアソームの活性化因子PA28が抗原プロセッシング反応に密接に関与していることである。

今後の課題

診断面では死亡例において抗核抗体陰性例、低力価例がみられることから現在日常診療に用いられている以外の自己抗体の有用性について検討すること、またAIHに特異的なマーカーの検索を続けていくことが必要である。PSLのAIHに対する有効性については既に確立されたように思えるが、副作用のために使用困難な例も少なからず存在する。前回の調査、今回の調査でもUDCAの有用性が報告されている。しかし、有効性は60%とPSLに比較すると低く、初期治療として適切か、どのような症例がUDCAの適応となるかについて今後も調査・研究する必要がある。HLA-DR4がAIHのrisk factorの一つであることは明らかにされているが、HLA-DR4陰性例も10~20%存在する。このような症例が臨床、病態でどのような特徴を有するのか今後調査・研究する必要がある。また、肝細胞障害のメカニズムについてもADCCか、それともCTL介在性の細胞障害なのか依然として残された問題である。また、標的抗原が何であるかも未解決である。

自己免疫性肝炎に関する第2次調査結果報告 (平成9年度全国調査最終報告)

東京慈恵会医科大学・第一内科

戸田 剛太郎

協同研究者：銭谷幹男、渡辺文時

高橋宏樹

平成7年1月から平成9年12月までの3年間に全国80施設より413例の新規自己免疫性肝炎 (AIH) 症例が登録された。これら症例について同胞間発症例、年齢、性、International autoimmune hepatitis groupによるAIHスコア、自己抗体陽性率、HCV感染率、薬剤治療効果などを調査し、1. 治療効果に関してプレドニゾロン (PSL) 無効例とウルソデオキシコール酸 (UDCA) 単独投与例、2. 予後に関して死亡例、急性発症例、3. 特殊例として抗核抗体 (ANA)、抗平滑筋抗体 (ASMA) 陰性例については2次調査を施行した。

同胞間発症例は、母娘2家系、姉妹4家系の計6家系のみで登録されており、症例数が少なくsib studyは行えなかった。今回調査症例の発症年齢は15歳から最高90歳にわたり、男女ともに50歳代をピークとした一峰性の年齢分布を示し、平均年齢は前回平成6年度調査の50.8 \pm 12.7歳から54.2 \pm 13.4歳、また60歳以上の患者は平成6年度報告の24.6%から今回の37.8%と患者の高齢化がみられた。男女比は1:6.3で女性有意であった。治療前のAIHスコアは10点以上が96.2%を占め、内16点以上の確診例は54.1%と前回調査の48%に比し増加していた。9点以下の症例が3.8%あり、AIHの診断根拠は1例を除きANA陽性またはASMA陽性であった。

ANAは全登録症例の94.9%に認め、その88%が80倍以上を示し、中央値は320倍であった。ANA陰性例は21例5.1%存在し、ANA、ASMA陰性患者が7例存在した。ANA、ASMA陰性例で第2次調査の解答が得られた5例中2例40%が男性で、平均ALTは846IU/Lで、ALPは340IU/Lであった。また、5例中3例60%が急性発症例で、1例はAMA陽性であった。

今回の検討では、HCV抗体陽性例は30例7.3%存在した。HCV抗体陽性者29例でHCV-RNAが測定され、陽性患者は16例55.2%、全登録患者数の3.9%であった。HCV-RNA陽性例の平均発症年齢は60.5歳とRNA陰性例の50.5歳に比較し高齢であった。そのAIHスコアは確診例6.7%、疑診例73.3%で、その他が20.0%であった。また、ANA陽性が15例93.8%で、残り1例もASMAが陽性で、ANA、ASMA陰性例はなかった。

PSLは324例79.4%に使用され、効果判定が行われた

319例のうち部分寛解以上の有効率は91.2%で、PSL投与無効例は10例3.1%であった。2次調査で解答の得られた6例のPSL無効例は、平均発症63.8歳と高齢傾向があり、ANA中央値は640と高く、ALTは 651 ± 884 IU/Lであった。その内訳は、治療開始遅延症例が2例（1例はSNMC治療、1例は無治療で経過）で、ともに重症化し死亡。急性発症重症例が2例、内1例が死亡、1例はサイクロスポリンにて改善を認めていた。さらに、2例はHCV陽性例で、PSL使用し無効と判定後UDCA、SNMCにてトランスアミナーゼの低下を認めている。初期治療でUDCAの単独投与は33例が行われ、ALTの完全正常化を著効例とすると20例60.6%で、治療後のALT値は平均23 IU/Lであった。著効例は高齢、女性優位傾向を認めたが、ともに有意差はなかった。また、治療前ALT値は無効群の 254 ± 355 IU/Lに比し著効群では 199 ± 213 IU/Lと低い傾向にあったが、有意差は認めなかった。

死亡は7例、全体の1.7%で、平均発症年齢73.6歳と高齢、また全例AIHスコアは10点以上で、16点以上が4例であった。治療開始時ALT値は 350 ± 230 IU/L、総ビリルビン値は 12.4 ± 5.5 mg/dlであった。死因は7例中5例71.4%が肝不全（急性重症1例、肝硬変2例、治療遅延2例）で、2例28.6%ではPSL治療は有効後の感染症（肺炎）であった。急性発症重症例は7例1.7%で、発症年齢は 44.9 ± 10.8 歳と若く、全例疑診であった。これら症例のANA陽性率は57.1%と低く、陽性例のANA中央値も40倍と低値であった。血清IgGは 2264 mg/dlで、平均ALTは 905 ± 562 IU/L、総ビリルビン値は 11.0 mg/dlと高値であった。なお、PSLは5例71.4%に有効で、死亡は7例中1例14.3%に認めた。

今回の特徴は、男性患者比率の上昇傾向、患者の高齢化傾向であった。また、HCV抗体陽性者のほとんどでHCV-RNAが検討され、AIH患者におけるHCV-RNA陽性率が3.9%であることも明らかとなった。

考 案

平成9年度調査の昨年度報告では、登録患者数394例であったが、その後追加登録があり、平成9年度全国調査による最終的新規AIH患者数は80施設413例となった。この結果は、平成6年度調査時の496例/5年間に比較し、413例/3年間とAIH患者の増加を示唆している。また、患者分布では男性患者増加傾向、患者の高齢化など最近の傾向となっている。AIHスコアは96%が10点以上を示し、International Autoimmune Groupによるスコアが本邦においてもAIH診断に際して有用であることが確認された。なお、今回の検討結果、同胞間発症例は6家系のみで、AIHの家族内集積は少ないものと考えられた。

今回の検討では、HCV抗体がほぼ全例で測定され、加

えてHCV抗体陽性者97%でHCV-RNAも測定されており、AIH患者におけるHCV感染率の実体が明らかとなった。その結果、AIHにおけるHCV-RNA陽性率は3.9%であった。HCV抗体陽性者は7.3%と平成6年度調査時の12.3%より低下していた。これは、前回調査時HCV陽性者でもAIHを疑わせる症例を積極的に集めたためか、あるいは診断医の疾患に対する認識の相違に起因していることが考えられた。ANAは登録症例の94.9%で陽性となり、AIHの診断においては最も検出感度が優れている自己抗体であることが再確認されたが、一方で、ANA・ASMAともに陰性の症例も7例存在した。それらの症例では他の自己抗体も検出されておらず、急性発症例に多く認められた。換言すれば、急性発症例では自己抗体を認めないことも多く、診断時に注意を要するものと考えられる。

治療面では、PSL投与により部分寛解以上の効果が91.2%の症例で認められた。またPSL減量中に増悪した症例でもPSLの再投与によりそのほとんどで再寛解導入に成功している。PSL無効例のなかで、PSL開始遅延による無効症例も存在しており、PSL投与のタイミングおよび投与量の減量に注意すれば、PSLの最終治療効果は96%以上になるものと推察された。一方、UDCA単独投与治療例は33例存在し、約60%で効果を認めているが、それら症例の特徴はみいだせなかった。また、これらの症例の長期的予後については不明である。今後、PSL投与例とUDCA単独投与例の予後比較、UDCAの効果的投与方法について検討を加える必要がある。なお、HCV-RNA陽性例に対するIFN投与症例は今回は認められず、治療後の経過からもC型慢性肝炎との臨床的鑑別が適正に行われていることが示唆された。

新規登録患者の内、死亡は7例1.7%で、平均73.6歳と高齢者が中心だった。その71.4%は肝不全死で、28.6%はPSL投与有効後の感染症による死亡だった。急性発症（重症）例は7例1.7%みられ、若年傾向、ANA低陽性率、ANA低力価（ANA陽性者）が特徴的であり、自己抗体陽性率の低下が同疾患の診断を困難にしていることが推察された。

今後は、新規症例数の調査とともにHCV診断が可能となったからのAIH症例の長期的予後、ならびにAIHに対するUDCAの効果的投与方法の検討を含めた治療法の検討を行う予定である。

参 考 文 献

- 1) 岡 博, 戸田剛太郎, 池田有成: 自己免疫性肝炎—全国調査集計結果. 厚生省特定疾患難治性の肝炎調査研究班, 昭和63年度研究報告. 1988: 237-241.
- 2) 太田康幸, 恩地森一, 堀池典生, 他: 自己免疫性肝炎全国集計. 厚生省特定疾患難治性の肝炎調査研究

- 班, 平成3年度研究報告. 1992: 16-18.
- 3) 戸田剛太郎, 銭谷幹男, 渡辺文時: 自己免疫性肝炎の全国集計結果および診断指針の改訂. 厚生省特定疾患難治性の肝疾患調査研究班, 平成7年度研究報告. 1996: 7-8.

- 4) 戸田剛太郎, 銭谷幹男, 渡辺文時, 他: 自己免疫性肝炎全国アンケート調査報告. 厚生省特定疾患難治性の肝疾患調査研究班, 平成9年度研究報告. 1997P: 8-11.

年齢・性別

平均年齢 54.2±13.4歳 (最低年齢: 15歳、最高年齢: 90歳)
男女比 57: 356 (1: 6.3)

年齢	男	女	計
~19	1	5	6
20~29	1	19	20
30~39	5	24	29
40~49	13	57	70
50~59	17	115	132
60~69	10	101	111
70~79	9	31	40
80~	1	4	5
計	57	356	413
平均	54.8±14.1	54.1±13.3	54.2±13.4

AIHスコア (治療前)

AIHスコア	男	女	計
~ 9	3	12	15 (3.8%)
10 ~ 15	29	136	165 (42.1%)
16 ~	23	189	212 (54.1%)

HCV-RNA 陽性例

症例数	16例 (全症例の 3.9%)
平均年齢	60.5±7.7歳
性比(男:女)	2:14
AIHスコア	11.6±3.6
ANA陽性	15/16 (93.8%)
ASMA陽性	8/16 (50.0%)
ANA, ASMA陰性例	なし

ANA, ASMA 陰性例 (2次調査結果)

症例数	5例 (全症例の 1.2%)
平均年齢	51.0±17.1歳
性比(男:女)	2:3
AIHスコア	11.2±1.8 (全例14点以下)
AMA陽性	1例
ALT (IU/L)	846±789
急性発症例	3/5 (60%)

年齢	症例数
~39	0
40~49	1
50~59	6
60~69	7
70~79	2
80~	0

自己抗体

ANA/ASMA	
+/+	128
+/-	262 ANA陽性 390 (94.9%)
-/+	14
-/-	7 ANA陰性 21 (5.1%)
計	411

AIHスコア	症例数
~ 9	3
10~15	11
16~	1

HCV関連症例

	HCV抗体		HCV抗体	
	陽性	RNA陽性	RNA陰性	陰性
症例数	30	16 (55.2%*)	13 (44.8%*)	382
性比(男:女)	3:27	2:14	1:12	54:328
平均年齢(歳)	55.9±10.5	60.5±7.7	50.5±11.4	54.0±13.6
AIHスコア	12.7±3.3	11.6±3.6	13.9±2.6	15.6±3.1

*: HCV抗体陽性でRNAが測定された29例に対する比率

PSL単独使用無効例

頻度(無効例/使用例) 10/328 (3.1%)

2次解答の得られた6例について

年齢(歳)	63.8±16.8
性比(男:女)	1:5
ANA中央値	640
ALT(IU/L)	651±884

症例の内訳

治療開始遅延例:	2(死亡2例)
急性発症重症例:	2(死亡1例)
HCV陽性例:	2

死亡例

症例数	7例(全症例の1.7%)
平均年齢(歳)	73.6±9.6
性比(男:女)	1:6
AIHスコア(点)	14.7±1.2
ANA中央値	160倍
ALT(IU/L)	350±230
T.Bil(mg/dl)	12.4±5.8

死因: 感染症(PSL有効)	2
肝不全(急性重症)	1
肝不全(肝硬変)	2
肝不全(治療時期遅延)	2

UDCA単独使用 33例

	著効*	無効
症例数	20 (60.6%)	13 (39.4%)
年齢	56.3±9.6	50.6±13.5
性比(男:女)	1:19	3:10
ANA中央値	320	320
ALT(IU/L)	199±213	254±355

*: ALT正常化例(治療後ALT: 22.3±10.0)

急性発症重症例

症例数	7例(全症例の1.7%)
平均年齢(歳)	44.9±10.8
性比(男:女)	2:5
AIHスコア(点)	11.6±1.9点(全例疑診)
ANA中央値	40倍
ANA陽性率	4/7(57.1%)
IgG(mg/dl)	2264±1049
ALT(IU/L)	905±562
T.Bil(mg/dl)	11.0±8.6
PSL有効率	71.4%

高分化型肝癌細胞と樹状細胞の融合細胞移入による自己免疫性肝炎モデルの作製

東京慈恵会医科大学・第一内科

戸田 剛太郎

協同研究者：本間 定，榎本康之

入江正紀，銭谷幹男

高橋宏樹

はじめに

自己免疫性肝炎 (Autoimmune hepatitis: AIH) は肝を主体とした自己免疫疾患と考えられるが、その病態の責任標的分子や、自己免疫反応を形成する免疫担当細胞の特性、病態形成に關与するサイトカインの動態など不明な点が多く残されている。この原因のひとつとして、AIHの病態研究のための適切な動物モデルが存在しないことがあげられる。従来よりいくつかのAIHのモデル動物が報告されているが、その臓器特異的免疫反応については明確ではない。

今回、われわれはAIH病態解明のための有用な動物モデルの作製を試みた。樹状細胞 (dendritic cell, 以下DC) はプロフェッショナル抗原提示細胞と呼ばれ、ナイーブTリンパ球に感作を成立させ (primary immune response)、生体の免疫機構調節の中心的な役割を演ずる細胞といわれている¹⁾。DCはウイルス感染に対する免疫や抗腫瘍免疫の誘導のみならず、自己免疫性疾患の形成にも關与することが示されている²⁾。

近年、悪性黒色腫を中心にリンパ球に認識される癌拒絶抗原の存在が証明されたが³⁾、多くの癌細胞において癌拒絶抗原は未同定である。このような抗原未同定の癌細胞に対して、強力な免疫反応を誘導する方法としてDCと癌細胞の細胞融合法が試みられ、有効な抗腫瘍免疫が誘導された⁴⁾。われわれは組織特異抗原の未同定な臓器細胞に対して自己免疫反応を誘導する方法として、このDCとの細胞融合法を試みた。AIHの動物モデルの作製のために、DCとsyngeneicな肝細胞、または正常肝細胞としての特性を示す高分化型肝癌細胞の融合細胞を作製し、この融合細胞をマウスに移入することにより、AIHに類似した病態を肝に形成できるか否かを検討した。

対象と方法

1) 細胞、マウス、試薬

Hepa 1-6は、Darlingtonら⁵⁾により樹立、報告されたマウス高分化型肝癌細胞株であり、Albumin, AFPなど多種の血清蛋白を産生し、正常肝細胞に類似した性格を示す。ATCCより分与され、DMEM+10% FCS培養液で維

持されている。マウスはC57BL/6 (H-2^b, 6-10週齢, 雌) を三共ラボラトリーKKより購入した。マウスリコンビナントIL-12 (m-rIL-12) はGenetic Institute (Cambridge, MA) より分与を受けた。

2) 樹状細胞の採取

骨髓由来樹状細胞は、稲葉ら⁶⁾の方法を改変して用いた。マウス下肢の骨髓細胞を採取し、 γ -globulinによるpanningを用いてFc receptor陽性細胞を除去後、m-rGM-CSF, m-rIL-4を添加したRPMI-1640+5% FCS培地で4-6日間培養し、成熟したDCを採取した。DCはCD11c, CD54, DC80, CD86, MHC class-I, class-IIを発現し、syngeneic, allogeneic mixed lymphocyte reactionにおいてリンパ球刺激能を示した。

3) 単離肝細胞の採取

マウスを麻酔下に開腹し、下大静脈よりcanulationし、PBSで前灌流後、0.05% collagenase溶液を灌流した。灌流肝を細切し、collagenase溶液の中でincubateした後、低速遠心で肝実質細胞を採取した。

4) 細胞融合

細胞融合用50% polyethyleneglycol (PEG, Sigma) を使用した。DCとHepa 1-6または単離肝細胞を2-3:1の割合で混合し、PEGで処理した。RPMI-1640培地でPEGを一定時間で希釈後、細胞を一晩incubateし、浮遊細胞分画を採取した。2 color FACSで検索した両細胞の融合効率は15-30%であった。

5) マウス処置

単離肝細胞とDCの融合細胞 (DC/Hepatocyte) は、自己細胞である肝実質細胞の低い抗原性を考慮し、より強いリンパ球への抗原提示を期待して経皮的に脾内に注入した。Hepa 1-6とDCの融合細胞 (DC/Hepa 1-6) は背部皮下に接種した。IL-12 (500ng/mouse) は腹腔内に投与した。両群の処置プロトコルを図1, 2に示す。

結 果

1) 単離肝細胞とDCの融合細胞 (DC/Hepatocyte) 移入による肝の組織学的変化

DC/Hepatocyte移入による肝の組織学的変化を示す (図-3)。肝小葉内を中心に巣状の細胞浸潤が認められた。細胞浸潤の程度は比較的軽度で、肝内には細胞浸潤の乏しい部位も認められた。DC/Hepatocyte移入にIL-12投与を併用しても、肝組織の細胞浸潤の量と組成に変化は認められなかった。

2) Hepa 1-6肝癌細胞とDCの融合細胞 (DC/Hepa 1-6) 移入による肝の組織学的変化

DC/Hepa 1-6移入により肝にはDC/Hepatocyte移入時に見られたような軽度の細胞浸潤が認められた。しかし、DC/Hepa 1-6移入にIL-12の投与を併用すると、肝には著

明な細胞浸潤が認められた(図-4)。肝に浸潤した間葉系細胞はリンパ球が主体であるが、マクロファージ、好中球の浸潤も認められた。細胞浸潤の強い部位には肝細胞の壊死像も認められた。この処置により肝に強い細胞浸潤を認めたマウスの血清ALT値は70-80 U/dlと上昇していた(無処置マウスの血清ALT値は20-30 U/dl)。肝に見られた組織学的変化は、肺、腎、大腸、心には認められなかった。融合細胞を投与しないIL-12単独投与群では、肝に細胞浸潤などの組織学的変化を認めなかった。

DC/HepatocyteまたはDC/Hepa1-6の移入とIL-12投与による肝の組織変化を表1にまとめて示す。また、肝特異機能を有さない低分化型肝癌BNL(H-2^d)とDCの融合細胞をBALB/cマウスに移入し、IL-12を投与しても肝には細胞浸潤などの組織学的変化を認めなかった。

考案・結論

プロフェッショナル抗原提示細胞で、Tリンパ球の感作成立に重要な役割を演ずるDCは、自己免疫疾患の成立にも深く関与していることが示されている。末梢血内には胸腺のselectionを免れた自己反応性リンパ球がlow frequencyながら存在していることが示されているが、臓器細胞はcostimulatory moleculeを発現していないため、自己反応性Tリンパ球は自己細胞とは反応せず、所謂末梢性免疫寛容を形成していると考えられている。近年、癌細胞に対する抗腫瘍免疫の誘導を目的として、DCと癌細胞の融合細胞を利用する方法が報告された⁴⁾。形成された融合細胞は癌細胞の抗原性を保持すると同時に、CD80、CD86、CD54、MHC class IIなどの抗原提示細胞の分子を発現し、癌細胞の持つ抗原性を効率良くCD4陽性Tリンパ球に提示できると考えられる。われわれはこの技法を自己免疫性肝炎モデルの作製に応用することを試みた。

コラゲナーゼ灌流法により得られたsyngeneic単離肝細胞とDCの融合細胞を作製し(DC/Hepatocyte)マウスに投与したが、この際自己肝細胞の低い抗原性を考慮し、より有効な抗原提示を期待して融合細胞を脾内に局注した。その結果、肝にはリンパ球を主体とした軽度の細胞浸潤が認められた。DC/Hepatocyte移入マウスにIL-12を投与しても、肝の間葉系細胞の浸潤の程度に変化は認めなかった。一方、高分化型肝癌細胞Hepa 1-6とDCの融合細胞(DC/Hepa 1-6)の皮下投与とIL-12の投与では、DC/Hepatocyteを移入した場合よりも強い細胞の肝への浸潤が認められた。DC/Hepa 1-6移入により惹起された肝の細胞浸潤は、腎、肺、心、大腸には認められず、組織学的検索のレベルではこの反応は肝に特異的であることが示唆された。また、肝特異機能を有しない低分化型肝

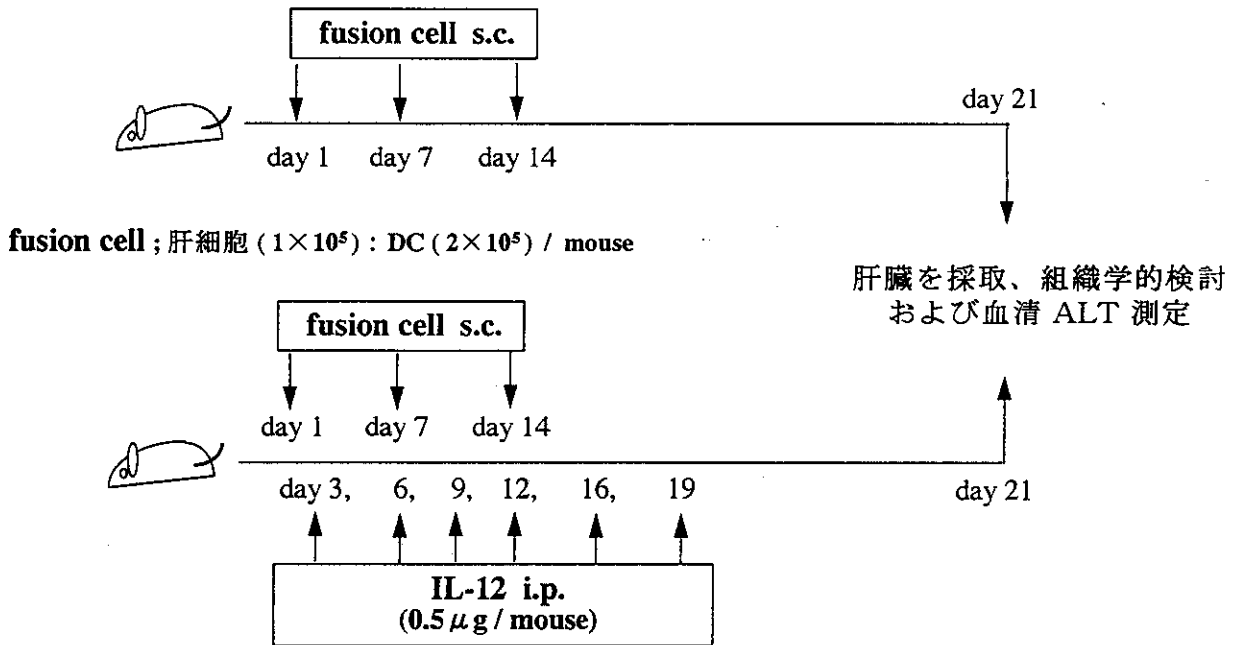
癌細胞BNLとDC融合細胞のBALB/cマウス(H-2^d)への投与では、Hepa 1-6に見られたような肝の組織学的変化は認められなかった。

Hepa 1-6の移入とIL-12の投与により、肝に強い細胞浸潤を生じた機序は現在のところ明らかではない。しかし、多くの肝特異機能を有するHepa 1-6は、肝細胞と共通または交差抗原性を有する抗原を発現していることは想像に難くない。DC/Hepa 1-6の移入により、肝の組織抗原に反応する自己反応性Tリンパ球が誘導され、これらのリンパ球がIL-12により強力に活性化されたことにより肝に浸潤したと推察される。DC/Hepatocyteの移入とIL-12の投与では、極軽度の細胞浸潤しか認めなかった理由は不明であるが、DCと単離肝細胞の融合効率がやや不良であることや、単離肝細胞とHepa 1-6の間にHLA class Iや標的となる特異抗原に量的差異が存在することも理由であるかもしれない。今後はこのHepa 1-6と肝細胞に共存すると考えられる共通抗原の存在の証明と、その同定が重要な課題である。マウスにおけるこのような現象を考慮すると、この抗原はAIHの標的抗原分子のひとつである可能性も考えられる。この目的のために、現在Hepa 1-6に特異的に反応する細胞障害性T細胞クローンを樹立し、この細胞のT cell receptorの認識する抗原ペプチドの構造の決定を試みている。

参考文献

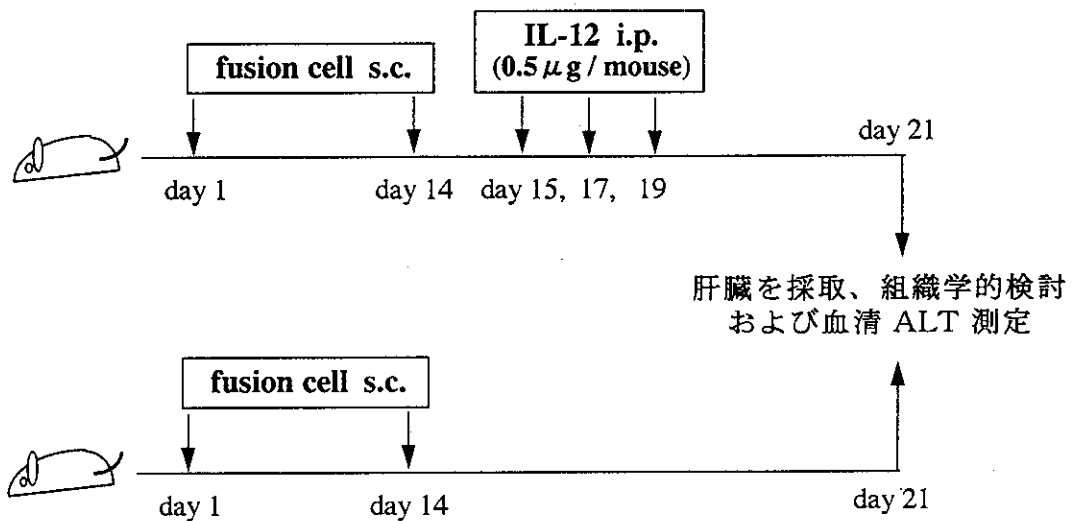
- 1) Banchereau J & Steinman M: Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392:245-252.
- 2) Lundewig BL, Odermatt B, Landmann S, Hengartner H, Zinkernagel RM: Dendritic cells induce autoimmune diabetes and maintain disease via De Novo formation of local lymphoid tissue. *J Exp Med* 1998; 188:1493-1501.
- 3) Rosenberg SA: Cancer vaccines based on the identification of genes encoding cancer regression antigens. *Immunol Today* 1998; 18:175-182.
- 4) Gong J, Chen D, Kashiwaba M, Kufe D: Induction of antitumor activity by immunization with fusions of dendritic and carcinoma cells. *Nature Med* 1997; 3:558-561.
- 5) Darlington GJ, Bernhard HP, Miller RA, Ruddle FH: Expression of liver phenotypes in cultured mouse hepatoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1980; 64:809-819.
- 6) Inaba K, Inaba M, Romani R, Aya H, Deguchi M, Ikehara S, Muramatsu S, Steinman RM: Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony stimulation factor. *J Exp Med* 1992;

肝細胞/DC融合細胞の移入、IL-12投与プロトコール



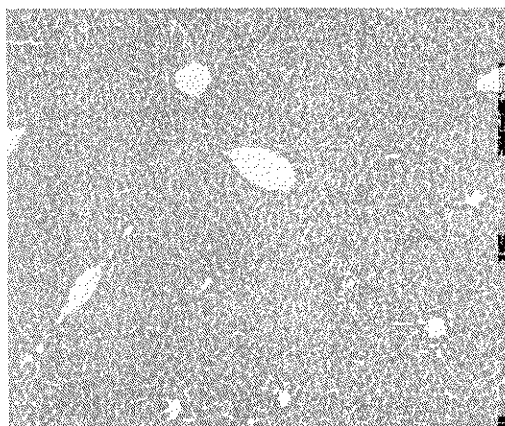
肝癌細胞/DC融合細胞の移入、IL-12投与プロトコール

fusion cell ; 肝癌 (5×10^4) : DC (1×10^5) / mouse



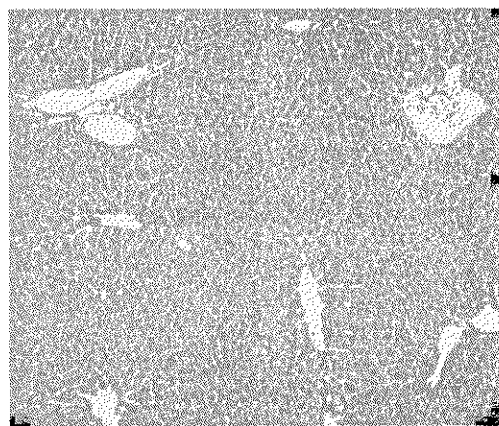
肝細胞／樹状細胞 融合細胞移入時の肝組織像

IL12投与前



ALT (IU/ml) 46.5 ± 13.6
(mean \pm SD)

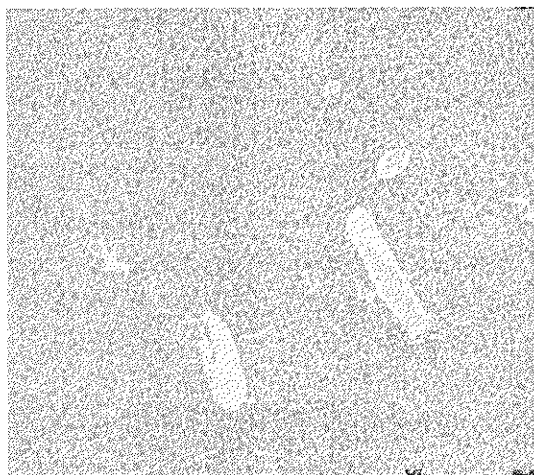
IL12投与後



48.0 ± 0.8

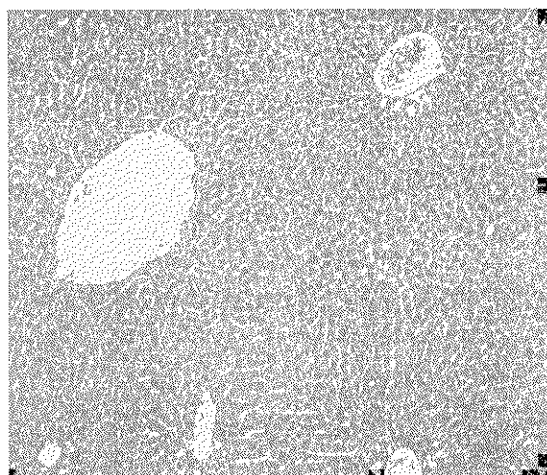
肝癌細胞 (hepa 1-6) ／樹状細胞 融合細胞移入時の肝組織像

IL12投与前



ALT(IU/ml) 51.5 ± 24.6
(mean \pm SD)

IL12投与後



74 ± 7.2