総 説

樹状細胞と肝疾患の免疫病態および治療

恩 地 森 一

Role of dendritic cells in the immunopathogenesis and therapy of liver diseases

Morikazu ONJI

The Third Department School of medicine, Ehime University School of medicine

(Received January 9, 2004)

Key words—Dendritic cells; antigen presentation; liver diseases; therapy; hepatitis virus

I. はじめに

長らく肝臓は免疫学からは免疫応答に鈍い臓器であるとの認識であった。しかし、現在、肝は 'lymphoid liver' と称されるほど免疫応答に重要な役割を果たす臓器として認知されつつある。リンパ球幼若化現象が発見されるまでリンパ球が静止状態にある無反応の細胞されていたことと似ている。自己免疫性肝疾患やウイルス肝炎の発症、進展にも肝免疫は、免疫応答と寛容において大きな役割を果たしている。抗原提示樹状細胞は免疫応答の開始点にあって、肝免疫においてもキーパーソンの存在である。肝の樹状細胞は定常状態を維持するために、全身と肝局所の免疫寛容になくならない存在となっている。さらに、この樹状細胞を用いて治療法の開発が進み、一部では臨床応用が試みられている。筆者らの研究成果も含めて、樹状細胞と肝疾患の免疫病態、治療法の開発について概説する。

II. 樹状細胞の概要

樹状細胞 (Dendritic cells, DC) は最も抗原提示作用が強く、未感作 T 細胞を特異的に活性化できる唯一の細胞である。その特徴を表 1 に示した^{1~3)}。DC は骨髄幹細胞に由来し、免疫監視細胞として全身に分布する。種類と成熟段階により性状、機能、分布が異なる。未感作 T 細胞、メモリー T、B 細胞、NK 細胞、NKT 細胞を活性する。未熟な DC は抗原を捕捉し、取り込み、消化、分解し、MHC

分子に結合して提示する。その過程で末梢組織から所属リンパ系器官に移動し成熟する。中枢性および末梢性免疫寛容を誘導する。さらに一部の DC 前駆細胞は 1 型インターフェロンを産生して、自然免疫に関与している。マクロファージ遊走阻止因子、TNF- α なども産生して炎症に関与している。

DC には多くの種類があるが、その分類は混沌としている。現時点で概括すると、myeloid DC と plasmacytoid DC の分けられる。myeloid DC は IL-12 などの Th1 系サイトカインを産生し、Th1 系の免疫応答を誘導する。定常状態では主に免疫寛容に働いている。一方、plasmacytoid DC は Th2 系の免疫応答を誘導する。ウイルス感染では Th1 系の免疫応答を誘導することもある。しかし、通常は免疫寛容に作動していることが多いとされている。1 型インターフェロンと IL-6 を産生し、B 細胞の形質細胞への誘導に必須の DC である⁴⁾。その概要

表 1 樹状細胞の特徴

1) 免疫監視機構	分布臓器：全身、抗原捕捉の後所属リンパ器官に移動
2) 抗原提示能	抗原の捕捉、処理、提示を行う
低レベルの抗原でも強い免疫応答を誘導する
3) 形態：成熟ないしは活性化すると多数の樹枝状突起を持つ	
4) 多型性：種類、成熟過程、分布臓器により性状が異なる	
5) 免疫応答の開始点で作用	未感作 T、メモリー T、B、NK、NKT 細胞を刺激
6) 免疫寛容を誘導	中枢性、末梢性免疫寛容を誘導
7) 活性化された NK 細胞により未熟な樹状細胞は除去される	
8) 自然免疫に関与	1 型インターフェロン産生樹状細胞の存在

図1 樹状細胞の種類と免疫応答誘導

を図1に示した。DCはIL-6を介して制御性T細胞（Tr）を制御するとともに、DCが未感作T細胞に作用するところをTrが抑制している。DCとTrの関係は解明が進んでいる。

III. 肝免疫の特性

肝は全身の生体防御機構、特に免疫機構において重要であることが、再認識されてきている。肝免疫の特性を表2に示した⁵⁾。場としての特性には、胎生期に造血器であったこと、消化管や脾からの門脈血を受け入れていること、代謝産物の排出路として粘膜免疫を形成している胆管・胆道系が存在することなどがある。また、免疫学的には未熟なDC、NK、NKT、 $\gamma\delta$ T細胞、CD8陽性T細胞が多いこと、HLA不適合でも移植が可能などがある。肝は免疫担当細胞が豊富で、機能も旺盛であることから“lymphoid liver”とも言える。また、T細胞やDCを大量に処理する場ともなっている。これらの特性は肝疾患での免疫異常のみならず、全身の免疫と生体防御を知る上で重要である。

1. 肝と自然免疫、獲得免疫

免疫系は自然免疫と獲得免疫に大別される。自然免疫の細胞成分として貪食細胞、NK細胞、NKT細胞、 $\gamma\delta$ T細胞などがある。そのレセプターはCD14、Toll-like receptor (TLR)、マンノースレセプターなどが知られている。形質細胞様樹状細胞（plasmacytoid DC (PDC)）はサイトカインである1型インターフェロンを産生して自然免疫として働く。自然免疫を構成する細胞は肝に多く存在して、門脈と動脈の血液が流入する類洞を形成している。また、自然免疫に関与する蛋白成分の多くは肝で産生されている。外界異物（病原体）を認識するレセプターとしてToll-like receptor (TLR)があるが、

表2 肝免疫の特性

I. 場としての特性

- 1) 胎生期に造血器である
- 2) 消化管から門脈血として大量の抗原が流入している
- 3) 最大のリンパ器官である脾臓からの血液を直接受けている
- 4) 代謝産物の排出路として胆管胆道系があり、粘膜免疫が成立している

II. 免疫学的特性

- 1) NK細胞、NKT細胞、胸腺外分化T細胞や未熟な樹状細胞が多い
- 2) 多くのサイトカインを産生し、肝構成細胞が標的となり、代謝している
- 3) 血管炎が少ない
- 4) 薬物アレルギーが多い
- 5) HLA不適合でも移植可能で、移植後自然免疫寛容が多く成立する

肝にはTLRを発現する免疫担当細胞が多数存在しており、自然免疫が肝で作用していることを示している。感染症の成立や腫瘍発生の阻止に自然免疫は大きな役割を果たしている。

一方、獲得免疫は抗原に対して、応答の速さと強さが記憶B、T細胞の成立により獲得された。獲得免疫は肝の生体防御や疾患の成立に大きな役割を果たしている。ウイルス肝炎や自己免疫性肝疾患で細胞障害性T細胞（CTL）が大きな役割を果たしていることは確実である。肝疾患の成立には獲得免疫がより大きな役割を果たしている。

2. 肝の構成細胞と免疫

肝の上皮細胞には2種あり、胆管細胞は肝のすべての細胞の3~5%を、肝細胞は肝臓全体では2500億万個存在する。肝非実質細胞としては類洞壁細胞と肝リンパ球系細胞がある。類洞壁細胞としてクッパー細胞、類洞内皮細胞、星細胞とPit細胞が、肝リンパ球系細胞としてNKT細胞、NK細胞、T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、DCなどが存在する（図2）。Pit細胞はNK活性があり、NK細胞と同一とされている^{6~8)}。肝には流血中のT細胞やDCが大量に入る。抗原非特異的な方法でアポトーシスに陥り処理され、免疫応答を起こさなくなっている。ある意味で、T細胞とDCにとって肝は墓場である。一方、免疫記憶T細胞は肝のアポトーシスを誘導しようとする作用に抵抗性である。肝は免疫担当細胞を処理するとともに保護的に作用する臓器とも言える。

(Mehal W. Z, et al. Gastroenterology, 2001; 120: 250-260)

図2 ヒト及びマウスの肝における非実質細胞の構成

1) クッパー細胞

類洞壁細胞の1つである。多くのサイトカインを産生して、免疫応答や炎症の成立に大きな役目を果たしている。クッパー細胞には貪食能や抗原提示能があり、組織中にあるマクロファージの80%を占めている。クッパー細胞は単球と異なり貪食能が強く、流入する異物を貪食して、生体防御の役割を果たしている。クッパー細胞は細菌およびその成分を貪食する。エンドトキシンはクッパー細胞に貪食され、生理的条件下では大循環に流出しないが、門脈/静脈でのシャントが形成されると、全身への影響が出やすくなる。アポトーシスに陥った細胞を貪食し免疫寛容を維持している。TNF- α などのサイトカインを産生して、炎症にも関与している。In vitroの実験ではあるが、クッパー細胞によって産生された一酸化窒素はT細胞の活性化を抑制する。アルコール性肝障害などでクッパー細胞機能が障害されるとエンドトキシンなどの有害物質が類洞を越え肝内に流入するとともに、大循環にも流出する。エンドトキシンにより多種のサイトカインやケモカインがクッパー細胞から産生されると、肝障害はさらに進展する。障害肝では末梢血単球に由来するマクロファージも浸潤し、常在するクッパー細胞とともに活性化することで、壊死、線維化、再生など肝病態の成立に関与している。特に劇症肝炎の成立と進展にクッパー細胞とマクロファージが重要である。その過程では多彩なサイトカイン、ケモカインが作動している。

2) 肝星細胞 (伊東細胞)

肝星細胞はビタミンAを含む脂肪貯蔵細胞である。肝星細胞の近くには膠原線維が多く見られ、多くのサイトカインに刺激され膠原線維や細胞外基質の構成成分を産生する。すなわち、線維化に直接関与している。TGF- β や血小板増殖因子などで活性化する。活性化された星細胞はレプチンを産生する。レプチンは星細胞を刺激して肝線維化を促進する。一方、アディポネクチンは線維化を抑制する。星細胞は免疫応答には直接関与することは少ない。

3) 類洞内皮細胞

類洞内皮細胞は肝の類洞壁を形成する主要な細胞である。一酸化窒素などを産生して類洞の血流調節にも関与している。クッパー細胞機能が低下したときには流血中の異物を取り込み処理する。CD4陽性である。MHC class IIを表出し抗原提示作用もある。スカベンジャーレセプターをはじめとしてさまざまなレセプターがある。少量ではあるが、プロスタグランジン、IL-1、TGF- β などを産生する。IFN-inducible protein 10b (IP-10) や monokine-induced by IFN- γ (MIG) が類洞内皮細胞に発現しており、CXCR3陽性リンパ球を肝実質内へと遊走させる⁹⁾。

4) 肝NK細胞 (Pit細胞)

Pit細胞は肝に常在するNK細胞である。NK細胞(CD3-CD56+)は、抗原の感作なくとも自然に細胞障害機能を持つ。特にMHC class Iを発現していない細胞を強く障害する。肝に流入する未熟

な樹状細胞を処理する。生体の NK 活性は肝が最大である。肝内では Pit 細胞として多くの NK 細胞があり、腫瘍やウイルス感染の成立と進展阻止に重要な役割を果たしている。サイトメガロウイルス感染マウスでは 1 型インターフェロンによってケモカイン CCL3 (MIP1 α) が合成され NK 細胞の集積を促進する。CCL3 が不足すると NK 細胞の集積と防御免疫が低下する。NK 細胞はインターフェロン γ を産生し、肝細胞や類洞内皮細胞によるケモカイン CXCL9 (MIG) の分泌を促進する。肝 NK 細胞は T 細胞を肝に呼び込むことにより、T 細胞の免疫応答に関与していると考えられる。

5) リンパ球

肝臓のリンパ球は、肝組織 100 グラムあたり 10^6 細胞程度で、成人では 10^9 から 10^{10} 存在し、全身の約 10% 程度を占めている⁷⁾。

末梢血リンパ球と肝臓内のリンパ球とは構成比率に違いがある。肝には CD8+ T 細胞比率が多い。末梢血では $\alpha\beta$ T 細胞が 7 割近くを占めているのに対して、肝内では 3 割程度にとどまる。すなわち、肝では胸腺外分化 ($\gamma\delta$) T 細胞が多い。一方、肝内には NK 細胞、NKT 細胞が末梢血よりも高い割合である。特に全身ではわずか 2% 程度しかない NKT 細胞が、肝では 18% を占めている⁷⁾。CC ケモカインの 1 つである CCL17/TARC は門脈や肝静脈内皮細胞に発現し、リンパ球や DC に作用する。Stromal cell derived factor-1 (SDF-1) は胆管細胞に発現して、CXCR4 陽性の単球や T 細胞を遊走させる。Secondary lymphoid tissue chemokine (SLC) は二次リンパ濾胞の高内皮細静脈 (HEV) や T 細胞領域に発現しており、そのレセプターである CCR7 を介してリンパ球の血管外遊走や T 細胞領域への誘導に関わっている。原発性硬化性胆管炎 (PSC) の門脈域血管内皮に SLC が異所性に発現し、CCR7 陽性リンパ球の遊走に関係している。また、肝障害マウスモデルでは、SLC は門脈域の輸入リンパ管内皮細胞に発現し、抗 SLC 抗体は樹状細胞の portal-associated lymphoid tissue (PALT) への集積を阻止した。このことから、SLC は PALT 形成に関与しているとされている¹⁰⁾。

肝疾患患者の末梢血では、T 細胞と CD8 陽性 T 細胞数が減少することが多い。一方、肝組織内には CD8 陽性 T 細胞が集簇して、末梢血と肝組織内では鏡像関係となっている。肝炎の増悪時にそれが顕著となる。なお、マウスの灌流実験で活性化された

CD8 陽性 T 細胞は優先的に肝に取り込まれる。末梢血の T 細胞は、非特異的抗原に対して免疫応答は低下し、一方、特異抗原には高い免疫応答を示す。ウイルス感染、腫瘍、自己免疫性肝疾患における T 細胞の抗原特異性を明らかにすることは重要である。B 型、C 型急性肝炎、慢性肝炎において HBV および HCV 特異的 CD4 および CD8 陽性 T 細胞が誘導され解析されている。肝細胞癌患者の末梢血から α fetoprotein を特異的に認識する T 細胞が誘導された。原発性胆汁性肝硬変 (PBC) では抗ミトコンドリア抗体の対応抗原に特異的な CD8 陽性細胞障害性 T 細胞が末梢血および肝組織由来リンパ球から誘導されている。これらの細胞障害性 T 細胞が認識する特異的な抗原が確実に同定できれば、抗原特異的な免疫療法の道が開ける。

一方、制御性 T 細胞 (Tr) は CD4 陽性細胞の 5 ~ 10% を占め、CD4 陽性、CD25 陰性 T 細胞の増殖を抑制して効果 (effector) T 細胞を抑制する。自己免疫性肝炎、肝細胞癌や C 型慢性肝炎で低下している。

NKT 細胞 (CD3+ CD56+) は NK 細胞と T 細胞レセプターをともに持つ。肝や骨髄などの胸腺外の組織に多く分布している。肝内リンパ球の 2 割近くを占めている。肝の NKT 細胞のほとんどが CD4+ か CD4- CD8- であり、V α 14+ である。肝細胞には、NKT 細胞の分化と活性を促す CD1d 分子が多く発現して全身の NKT 細胞に影響を及ぼしている¹¹⁾。マウスでは肝再生時に NKT 細胞が増加する。肝内の CD8+ NKT 細胞が新生時のトレランスに関与しているとの報告がある。NKT 細胞は転移性肝癌モデル動物で、肝転移を阻止することが証明された。マウスに NKT 細胞を誘導する α -galactosylceramide を投与すると、肝 NKT 細胞が活性化を受け、Fas-Fas リガンド系を介して肝障害が惹起される。抗腫瘍傷害活性以外に ConA を用いたマウス急性肝炎モデルで肝障害の発生と進展し、さらに、門脈虚血再灌流肝障害に関与していた。

α -galactosylceramide を投与したマウスではマラリア感染の肝病期の免疫応答を誘導する。HBV トランスジェニックマウスに α -galactosylceramide を投与すると NKT 細胞の作用により HBV の増殖は抑制される。C 型慢性肝炎では肝内の炎症や線維化の程度に応じて CD56+ T 細胞の比率が増加しており、NKT 細胞が肝障害に関わっている。

通常、自己免疫疾患では末梢血 NKT 細胞の割合

が増加する。PBC 患者の肝内には健常者と比較して、約 3 倍のヒト CD1d- α -galactosylceramide テトラマー陽性細胞がみられ、これが PBC の病態に関わっていると考えられている。一方、CD56+ 細胞が減ると肝細胞癌になりやすいといわれている。

ヒトやマウスでは $\gamma\delta$ T 細胞は肝、脾、末梢血のリンパ球の 5% 程度を占めている。微生物やストレス蛋白などと反応し、IFN- γ などを産生して感染防御に働く。一方で *in vitro* の実験では IL-10 や TGF- β を産生して肝癌細胞株に対する細胞障害活性を下げる。 $\gamma\delta$ T 細胞の活性と肝細胞癌発生との関係が推測されている。 $\gamma\delta$ T 細胞が C 型慢性肝炎患者の肝組織内で増加し、それらが細胞障害活性を持っている¹²⁾。

肝内には progenitor, immature, mature な DC などさまざまな DC がある。肝にある DC は未熟な状態であるものが多い。抗原を取り込むと所属リンパ節に移動し、成熟して、未感作 T 細胞への抗原提示を行う^{13,14)}。DC には主に Th1 系に作動する Myeloid DC と主に Th2 系に作動する PDC の 2 つのサブセットがある。肝内にもこの 2 つの DC が存在する。2 つの DC とともに、腫瘍、移植およびウイルス感染に大きな役割を果たしている。

3. 肝免疫のホメオスタシス

肝には、門脈血を介して、消化管から流入したエンドトキシンなどの抗原物質が大量に入ってくる。しかし多くの物質には反応を起こさず、免疫寛容を誘導して、全身への影響を抑えている。その免疫寛容の状態を維持する機構に抗原提示細胞が関与している。抗原提示細胞には DC、クッパー細胞と類洞内皮細胞がある。マウスにおいて肝の DC は、骨髄から得た DC と比較して、免疫寛容に働くことが証明されている。クッパー細胞と類洞内皮細胞は大量に流入する抗原を処理して免疫寛容を誘導する¹⁵⁾。一方、DC は免疫応答も誘導する¹⁶⁾。また、免疫寛容性 (tolerogenic) DC は T 細胞に免疫寛容を誘導する。これらの抗原提示細胞により免疫応答と寛容のバランスが維持されている。その関係を図 3 に示した。肝障害により、そのバランスがくずれるとさまざまな病態が生じる。類洞内皮細胞によって構成されている生物学的なフィルターが障害されエンドトキシンなどの有害物質が流入すると、各種のサイトカインが産生されサイトカインネットワークが形成され肝障害は進展する。サイトカインの中で免疫抑

図3 肝免疫のホメオスタシスと抗原提示細胞

制作用のある IL-10 は肝で産生されやすい傾向にある。IL-10 は樹状細胞の成熟を抑制するが、1 型インターフェロンは促進する。免疫寛容が破綻すると自己免疫が生じる。また、免疫応答が抑制されると生体防御が障害され易感染性、易腫瘍転移性状態となる。

肝に大量にあるマクロファージ（クッパー細胞）や DC による肝局所の抗原提示を介して、T 細胞の不活性化、免疫寛容やアポトーシスが引き起こされていると考えられている¹⁷⁾。肝 T 細胞の免疫寛容は移植肝の良好な生存状態を誘導維持する。一方、腫瘍の肝転移を容易にしている可能性も想定される。

4. 臓器相関と肝免疫

肝は、消化管からは入るさまざまな抗原やタンパクを処理し、全身の免疫応答を制御している。消化管リンパ装置から免疫担当細胞が肝に入っている。また、消化管で産生された TGF- β などのサイトカインが肝に流入して肝の機能に影響する。免疫応答および免疫寛容の両面から、肝は消化管の影響を受けている。

肝には脾から直接門脈血が流入している。脾から肝へ、サイトカインなどの免疫物質が流入する。また、免疫担当細胞も流入していることが推定される。ラットでは脾からの門脈血には CD8 陽性 T 細胞が多い。脾を摘出したラットではアルコール性肝障害が重篤にならない。本態性門脈圧亢進症の原因として脾臓の因子が想定されている。

IV. B 型肝炎と樹状細胞

地球上には発展途上国を中心に、B 型肝炎ウイルス (HBV) の持続感染者 (キャリア) が 3 億 5 千万人存在し、年間 100 万人が死亡している。日本で

は約 150 万人の HBV キャリアがいて、年間 5 千人が肝細胞癌で死亡している。また、母子感染阻止事業は国の施策として定着しているが、最近では性的感染により若者を中心に感染が広まり、急性肝炎や劇症肝炎が発生している。

HBV 感染が生下時から 3 歳未満で感染すると持続感染が成立し HBV キャリアとなる。HBs 抗原が消失することは例外的で、強固な持続感染が成立する。日本の HBV キャリアの 90% 以上はゲノタイプ C であり、成人初感染では免疫不全状態などがない限りキャリアになることは例外的である。ゲノタイプ A や D では 10% 以下ではあるが成人初感染でもキャリアとなる。思春期頃まで、キャリアはウイルス量が多く肝障害のない無症候性キャリアの時期を経て、慢性肝炎、肝硬変と肝炎が進展する。この期間にウイルス量は減少するとともに、主としてウイルスのコアおよびプレコア領域の変異株が増加する。進行した慢性肝炎ないしは肝硬変の時期を迎えて HBe 抗原から抗体にセロコンバージョンが起こり、肝炎は終息し、ウイルス量は急激に減少する。HBV は宿主の遺伝子に組み込まれる。肝細胞癌は慢性肝炎から肝硬変患者に高頻度に併発する。

肝障害のない HBV キャリアが存在することから、肝炎すなわちウイルスの排除は宿主の免疫学的機構で行われている。特に CD8 陽性の細胞障害性 T 細胞が関与していることが観察されている。CTL の標的抗原はコア蛋白や HBs 抗原とされている。中和抗体は HBs 抗体である。

1. HBV トランスジェニックマウスにおける基礎的研究

HBV は *in vitro* での感染実験は不可能であり、免疫の実験系には大きな制約がある。筆者が DC の実験を開始した 1988 年頃はマウスでしか DC を同定するマーカーがなく、DC の単離もマウスのみで可能であったので、HBV を産生するトランスジェニックマウス (HBVTM) を使用した。このマウスは胎生 16 日から HBs 抗原やウイルス粒子を産生しているが肝炎は発症しない。ヒトの無症候性キャリアに近いモデルである。T 細胞依存性抗原である KLH に対する抗体産生も低下しており、脾臓の DC 機能低下と関係していた¹⁸⁾。DC の機能低下は外来性にインターフェロン (IFN) γ を投与すると回復した¹⁹⁾。次に HBV の特異抗原でも同様の現象を確認した。すなわち、HBs 抗原で感作した

HBVTM の T, B 細胞に正常マウスからの DC を加えて培養すると HBs 抗体産生が観察された²⁰⁾。このことから、胎生 16 日から HBV を産生している HBVTM でも HBs 抗原に対して完全な免疫寛容状態にはないことが明らかとなった。以上から、HBV 感染による免疫不全は抗原提示レベルにあって DC の機能障害が主因であり、完全な免疫寛容状態にはないと結論された。この成績は当時同じ時期に発表された“危険”モデル説ともよく符号していた。なお、それ以前に、筆者らはヒト B 型慢性肝炎の肝内で形成されるリンパ濾胞中の濾胞性 DC に HBs 抗原が存在することを観察し、末梢血中に HBs 抗体が観察されない時期からすでに HBs 抗体が産生されている可能性を指摘していた^{21,22)}。以上の実験結果から DC を特異抗原 (HBs 抗原) で刺激し、DC 機能を回復すれば HBV の持続感染は終息される可能性を考え、後に述べる HBs 抗原によるワクチン治療を開発することに着手した。マウス肝非実質細胞を GM-CSF 存在下で 1 週間培養して得られた DC 前駆細胞は IL-10 産生が強く、脾 DC よりも未熟で貪食能が強く、同種混合培養試験での T 細胞幼若化補助能は弱かったが、HBs 抗原刺激では Th1 関連サイトカイン誘導は可能であった²³⁾。すなわち、肝 DC 前駆細胞が免疫応答にも作用していることを確認した。

2. ヒト B 型慢性肝炎における DC 機能

B 型慢性肝炎の肝組織内には CD83 陽性の成熟した DC が浸潤していた²⁴⁾。また患者末梢血から採取した末梢血 DC の T 細胞幼若化補助機能は健常者に比べて有意に低下していた²⁵⁾。その原因の 1 つには DC の IL-12 産生能の低下が関与していた。その成績を図 4 に示した。同様の成績は他の研究者からも報告されている^{26,27)}。患者末梢血 DC に HBV が存在するか否かを HBVDNA の *in situ* hybridization 法により解析した。その結果、DC に HBVDNA が存在し、さらに、HBVRNA も存在することが明らかとなった。したがって、HBV は DC に感染し、その中で増殖している可能性が示された。なお、以前から患者末梢血リンパ球には HBV が存在することは報告されてきた。図 5 に示したように、抗ウイルス剤であるラミブジンを投与すると、DC 機能は回復した²⁸⁾。さらに、後に述べるワクチン療法をラミブジン投与に併用すると、DC 機能はさらに改善した。以上、HBVTM およびヒト HBV キャ

図4 B型慢性肝炎における末梢血樹状細胞によるT細胞幼若化反応補助能 (allogenic MLR)

図5 B型慢性肝炎に対するラミブジン, HBワクチン併用療法時における樹状細胞のT細胞幼若化補助能

リアの実験成績から, HBV キャリアではDC機能は低下しているが, HBV量を減じたり, 特異的な免疫療法を行うと回復することが明らかとなった²⁹⁾.

3. HBV ワクチン療法の開発

HBs 抗原投与によりDC機能が回復することから, HBs 抗原ワクチン療法の開発を開始した. HBVTMにHBs ワクチン 10 μg を腹腔内に1カ月に1回の間隔で注射すると, 8カ月頃から血中HBs 抗原の陰性化が始まった³⁰⁾. 4回の実験で, 総数111匹のマウスに投与したところ, 74匹, 66%でHBs 抗原が消失し, 42匹 38%にHBs 抗体が出現した. 肝臓内のHBVDNAも減少した^{31~33)}. HBVのDNAワクチンを作成して筋注射すると, 筋細胞中にHBs 抗原が発現し, その周囲にDCが集積してきた. このHBVDNAワクチンをHBVTMに, 1回のみで投与で, 15匹中14匹, 93%でHBs 抗原が消失し, 4匹 27%でHBs 抗体が出現した³³⁾.

次に, HBs 抗原をDCにパルスしてHBVTMに投与するDC-based vaccine therapyの開発を試みた³⁴⁾. HBVTMの脾臓からDCを単離し, HBs 抗原をDCにパルスした. そのDCをHBVTMの腹腔内に投与すると2回の投与でHBs 抗原は13匹中

図6 HBs 抗原をパルスした樹状細胞により治療したHBV transgenic mouseにおけるHBs 抗原の推移

13匹, 100%消失した(図6). HBVDNA ワクチンに匹敵する効果であった. DNA ワクチンと異なり, ヒトへの応用も容易であり, 現在, B型慢性肝炎患者への治験を開始している. 今後, B型肝炎に限らず, C型肝炎, HIV感染など持続感染するウイルス感染症への応用も期待される.

4. HBs 抗原樹状細胞ワクチンの応用

HBs 抗原をパルスしたDCワクチンはHBVキャリアへの治療ワクチンのみでなく, 予防ワクチンとしての可能性も期待される³⁵⁾. その応用範囲としては, 1) 通常のワクチン接種のみでは抗体産生が生じない, いわゆる非応答者, 2) HIV再感染で免疫不全状態にある患者, 3) 移植後などで免疫抑制剤投与により免疫不全にある患者などがその対象となる. 特に, HBVによる劇症肝炎, 肝硬変, 肝細胞癌で肝移植を行った患者には, HBV感染を予防するために, 長期にわたり抗ウイルス剤と高力価HBs 免疫グロブリンの投与が必要である. 医療経済上でもこのDCワクチンが期待される. そこで, HBVTMを用いて免疫抑制剤投与中でもこのワクチンが有効か否かを検討した. FK506投与で免疫抑制状態にあっても, さらにHBVキャリア状態ですら免疫抑制剤を投与されていても, HBs 抗体が出現し, DCワクチンが有効であることを確認した³⁶⁾. 次に, ヒトへの応用に向けて, まず健康者にHBs 抗原DCワクチンを投与して, その安全性を確認した. HBs 抗原DCワクチンを投与するとHBs 抗体の出現をみている³⁷⁾. 副作用はなく, 自己抗体も変動しなかった. ただし, 抗原をパルスした後, DCがどのように変化した時期に投与するかには技術的問題が残されている. いわゆる“コツ”が存在する.

IV. C 型肝炎と樹状細胞

C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染者はわが国では 180 万人存在して、そのほとんどが慢性肝疾患である。慢性肝炎、肝硬変の 85% 以上、肝細胞癌の 80% が HCV による。HCV は成人初感染でも持続感染 (キャリア化) が成立する。1 型インターフェロン治療により約 50% はウイルスを駆除でき、肝炎は終息して、肝細胞癌への進展を阻止できる。血液を介して感染する。若者の間では覚せい剤のまわし打ちで感染している。ワクチンは実用化されていない。HCV に感染した直後の急性肝炎の時期であればそのほとんどは 1 型インターフェロンでウイルスを排除でき、肝炎は治癒する。

C 型肝炎ウイルス (HCV) により DC 機能が低下することの最初の報告はマウス脾 DC で検討された。HCV コア蛋白を DC 内で発現すると、IL-12 の産生が抑制され DC 機能は低下した³⁸⁾。その後、C 型慢性肝炎患者の末梢血単球から誘導して得た DC の機能は低下することの報告が多い^{39~42)}。IL-12 の産生低下、NK 細胞と T 細胞の活性化に重要な MICA/B というアクセサリ分子の発現の低下などがあって、DC 機能が低下していた^{43,44)}。しかし、単球から誘導してえられた DC 機能については報告者により成績が異なる。筆者らは単球から誘導した DC を材料にした場合には健常者と比較して差異がなかったことを報告した⁴⁵⁾。最近、HCV 感染で単球から誘導した DC には機能低下のないことが報告されている^{46,47)}。また、単球および単球由来の DC に HCV の N4 を発現すると IL-10 が産生、IL-12 の産生が抑制されることが報告された⁴⁸⁾。単球および単球から誘導された DC と本来の DC とは機能面で異なることが考えられる。本来、流血中には存在しない DC であり、C 型肝炎の病態を理解する上では限界がある。筆者らは流血中 DC を直接採取し、その機能と HCV の存在を検討した⁴⁹⁾。図 7 に示したように、流血中 DC 機能は低下していた。インターフェロンやリバビリン治療で、DC 中の HCVRNA が陰性化するとともに、T 細胞幼若化補助能と IL-12 産生能は回復した⁵⁰⁾。DC には HCV が観察され、末梢血中 HCV とは塩基配列が異なっていたが、Lymphocytic choriomeningitis (LCM) ウイルスで観察されたように、DC にある HCV が特有の塩基配列であることは証明し得なかった⁵¹⁾。DC2 前駆細胞 (1 型インターフェロン産生細胞) は

図 7 C 型慢性肝炎と自己免疫性肝炎における末梢血樹状細胞の T 細胞幼若化補助能

おもな 1 型インターフェロン産生細胞であるが、C 型肝炎ではその機能も低下していた⁵²⁾。Pseudo-HCV を用いた実験系で HCV が E1/2 蛋白を介して myeloid DC 内に進入したが、plasmacytoid DC 内には進入しなかったとの報告もある。myeloid DC に HCV が感染することは明らかとなったが、plasmacytoid DC へ HCV が感染することは否定はできないし、plasmacytoid DC の機能が低下している機構も説明できない⁵³⁾。HCV 感染でこの細胞がどのように影響されるかは C 型肝炎の慢性化機構や治療法の開発をめぐって重要な課題となっている。C 型慢性肝炎にも DC を用いたワクチン治療が試みられているが悲観的な報告がある。

C 型慢性肝炎でインターフェロンが無効であった症例には、肝硬変への進展阻止と発癌抑制を目標に血清トランスアミナーゼの低下を各種薬剤で行っている。その最も有効な薬剤は SNMC である。ConA 肝炎マウスの肝 DC の IL-10 産生能は有意に低下していた⁵⁴⁾。しかし、in vivo でグリチルリチンを投与しておくと、肝 DC の IL-10 産生能は回復し、ConA 肝炎は抑制されていた。In vitro で肝 DC にグリチルリチンを投与しても IL-10 産生は回復した。以上から DC に対してグリチルリチンは IL-10 産生の回復ないしは IL-12 産生抑制によって Th1 系への免疫応答を抑制し肝炎を沈静化すると考えられる⁵⁵⁾。

VI. 肝細胞癌の免疫療法

わが国では肝細胞癌により年間 35000 人死亡し、現在も増加している。悪性新生物による死亡順位で肝細胞癌は男性で 3 位、女性で 4 位である。肝細胞癌の原因は HCV が 80%、HBV が 15% である。肝硬変から発生することが多い。

肝細胞癌では T 細胞, NK 細胞を含めた免疫機能不全が報告されているが, DC の機能も低下している. IL-12 や TNF- α 産生の低下によって, 末梢血 DC の Allostimulatory capacity は低下していた^{56,57)}. 1 型インターフェロン産生樹状細胞数も実数で低下していた. また, 肝細胞癌組織内には活性化 (CD83 陽性) DC は観察されなかった⁵⁸⁾.

肝細胞癌に対しては, DC を用いた免疫療法が動物とヒトで試みられている. 肝癌細胞株と細胞融合した DC を担癌マウス投与すると腫瘍の発育は有意に抑制された⁵⁹⁾. ヒトにおいては外科手術で採取した肝癌組織のライゼートを DC にパルスして術後の肝細胞癌患者に投与する治験が試みられている. しかし, 症例報告程度であり, まとまった報告はない⁶⁰⁾. 病期による肝癌関連抗原の変化や免疫応答する DC の採取などに問題が残されていると思われる⁶¹⁾. 肝細胞癌の癌関連抗原が不明であるとともに, 血液の悪性腫瘍と異なり癌細胞を容易に採取できないことが大きな隘路となっている. 筆者らは転移性肝癌モデルを用いて実験を行った後に, アルコール注入療法を行った肝細胞癌組織局所に DC を投与する治療法を行っている⁶²⁾. その 1 例を図 8 に示した. 安全性は確認され, 現在治療効果を観察中である.

VII. 自己免疫性肝疾患の治療と樹状細胞

自己免疫性肝疾患には原発性胆汁性肝硬変 (PBC), 自己免疫性肝炎 (AIH) と原発性硬化性

胆管炎 (PSC) がある. わが国は PBC 1~2 万人, AIH 千から 1 万人の患者が存在すると言われている. AIH は副腎皮質ホルモンが著効するが, 劇症肝炎となると治療抵抗性である. PBC と PSC には原因療法がなく, 治療に難渋している. 肝移植が最終的な治療となっている.

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の末梢血 DC 機能 (Allostimulatory capacity) は低下していた⁴⁵⁾. その主な原因は DC の一酸化窒素 (NO) 産生亢進であった. Bezafibrate を投与すると NO 産生は抑制され, Allostimulatory capacity は回復していた. PBC の肝組織内には活性化 DC (CD83 陽性) の浸潤が主に門脈域内に観察された^{63,64)}. 血中抗ミトコンドリア抗体陰性の PBC 患者においても, AMA の対応抗原である PDC を DC にパルスすると T 細胞の幼若化反応が全例で観察された⁶⁵⁾. 血清中 AMA 陰性でも PDC に感作された T 細胞は存在することが証明されたことは Autoimmune cholangiopathy が PBC に含まれることを示唆する成績と考えられる. AIH や PSC での DC の解析はほとんど行われていない. 高分化肝細胞癌と DC を癒合した細胞をマウスに投与すると AIH と類似した病変が生じることが報告されている⁶⁶⁾. AIH では Allostimulatory capacity は低下していなかった³³⁾. PBC と異なる病態である. AIH と PBC の末梢血 DC1 と DC2 を表面マーカーで同定すると, DC2 の HLADR と CD123 のレベルが低下していた⁶⁷⁾. さらに, 動物実験ではあるが抗原をパルスした免疫寛

図8 PEIで治療した腫瘍内に樹状細胞を投与した肝細胞癌の1例

容性 DC を用いて自己免疫性疾患に対する治療法が開発されている^{68,69}。今後、自己免疫性肝疾患である PBC や AIH の治療への応用が期待される。筆者らは PBC モデルマウスを用いて、免疫寛容性 DC による治療法を開発中である。

VIII. ま と め

免疫学は疾患の診断と病態の解明には大きな役割を果たしてきた。しかし、どの領域でもいえることであるが、免疫学が具体的に治療に貢献していることは意外と少ない。肝疾患においても、その病態に免疫異常が関わっていることが明白であるが、免疫学が肝疾患の治療法の開発に応用され成功したことは少ない。しかし、DC の研究成果が蓄積されるとともに、免疫刺激作用のある DC によるウイルス肝炎や肝細胞癌の治療、免疫寛容性 DC による自己免疫性肝疾患の治療法が開発が進んでいる。なかでも、肝細胞癌と B 型慢性肝炎に対するワクチン療法は臨床応用が開始された。今後、臨床効果が期待される。治療医学として、DC 研究は今後に大きな夢のある研究領域である。

文 献

- 1) Banchereau J, Briere F, Caux C, et al. : Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* **18** : 767–811, 2000.
- 2) Lotze MT and Thomson AW : Dendritic Cells. Academic Press, San Diego, 2001.
- 3) 恩地森一 : 樹状細胞と臨床。マイライフ社, 東京, 1999.
- 4) Jegu G, Palucka AK, Blanck JP, et al. : Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I interferon and interleukin 6. *Immunity* **19** : 225–234, 2003.
- 5) Onji M : Dendritic Cells in Clinics, Springer-Verlag, Tokyo, 2003.
- 6) O'Farrelly C, Crispe IN : Prometheus through the looking glass : reflections on the hepatic immune system. *Immunol Today* **20** : 394–398, 1999.
- 7) Mehal WZ, Azzaroli F, Crispe IN : Immunology of the healthy liver : old questions and new insights. *Gastroenterology* **120** : 250–260, 2001.
- 8) Kita H, Mackay IR, Van De Water J et al. : The lymphoid liver : considerations on pathways to autoimmune injury. *Gastroenterology* **120** : 1485–1501, 2001.
- 9) Jaeschke H : Cellular adhesion molecules : regulation and functional significance in the pathogenesis of liver diseases. *Am J Physiol* **273** : G602–611, 1997.
- 10) Tsuneyama K, Harada K, Yasoshima M, et al. : Monocyte chemotactic protein-1, -2 and -3 are distinctively expressed in portal tracts and granulomata in primary biliary cirrhosis : implications for pathogenesis. *J Pathol* **193** : 102–109, 2001.
- 11) Takeda K, Hayakawa Y, Van Kaer L, et al. : Critical contribution of liver natural killer T cells to a murine model of hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* **97** : 5498–5503, 2000.
- 12) Tseng CT, Miskovsky E, Houghton M et al. : Characterization of liver T-cell receptor $\gamma\delta$ T cells obtained from individuals chronically infected with hepatitis C virus (HCV) : Evidence for these T cells playing a role in the liver pathology associated with HCV infections. *Hepatology* **33** : 1312–1320, 2001.
- 13) Matsuno K, Ezaki T : Dendritic cell dynamics in the liver and hepatic lymph. *Int Rev Cytol* **197** : 83–136, 2000.
- 14) Woo J, Lu L, Rao AS, et al. : Isolation, phenotype, and allostimulatory activity of mouse liver dendritic cells. *Transplantation* **58** : 484–491, 1994.
- 15) Knolle PA, Schmitt E, Jin S, et al. : Induction of cytokine production in naive CD4⁺ T cells by antigen-presenting murine liver sinusoidal endothelial cells but failure to induce differentiation toward Th1 cells. *Gastroenterology* **116** : 1428–1440, 1999.
- 16) Abe M, Akbar SMF, Horiike N, et al. : Induction of cytokine production and proliferation of memory lymphocytes by murine liver dendritic cell progenitors : role of these progenitors as immunogenic resident antigen-presenting cells in the liver. *J Hepatol* **34** : 61–67, 2001.
- 17) Crispe IN : Hepatic T cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol*, **3** : 51–62, 2003.
- 18) Akbar SMF, Onji M, Inaba K, Yamamura K-I, Ohta Y : Low responsiveness of hepatitis B virus-transgenic mice in antibody response to T-cell dependent antigen : defect in antigen-presenting activity of dendritic cells. *Immunology* **78** : 468–475, 1993.
- 19) Akbar SMF, Inaba K, Onji M : Upregulation of MHC class II antigen on dendritic cells from hepatitis B virus transgenic mice by interferon-gamma : abrogation of immune response defect

- to a T-cell-dependent antigen. *Immunology* **87** : 519–527, 1996.
- 20) Kurose K, Akbar SMF, Yamamoto K, Onji M : Production of antibody to hepatitis B surface antigen (anti-HBs) by murine hepatitis B virus carriers : neonatal tolerance versus antigen presentation by dendritic cells. *Immunology* **92** : 494–500, 1997.
- 21) Kumon I, Onji M, Nadano S, Kanaoka M, Ohta Y : Detection of hepatitis B surface antigen in lymphoid follicle in patients with chronic hepatitis type B. *Gastroenterol Jpn* **24** : 738, 1989.
- 22) 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.
- 23) Abe M, Akbar SMF, Horiike N, Onji M : Induction of cytokine production and proliferation of memory lymphocytes progenitors as immunogenic resident antigen-presenting cells in the liver : *J Hepatol* **34** : 67–71, 2001.
- 24) Tanimoto K, Akbar SMF, Michitaka K, Horiike N, Onji M : Antigen-presenting cells at the liver tissue in patients with chronic viral liver diseases : CD83-positive mature dendritic cells at the vicinity of focal and confluent necrosis : *Hepatol Res* **21** : 117–125, 2001.
- 25) Arima S, Akbar SMF, Michitaka K, Horiike N, Nuriya H, Kohara M, Onji M : Impaired function of antigen-presenting dendritic cells in patients with chronic hepatitis B : localization of HBV DNA and HBV RNA in blood DC by in situ hybridization. *Int J Mol Med* **11** : 169–174, 2003.
- 26) Wang FS, Xing LH, Liu MX, et al. : Dysfunction of peripheral blood dendritic cells from patients with chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* **7** : 537–541, 2001.
- 27) Lohr HF, Pingel S, Bocher WO, et al. : Reduced virus specific T helper cell induction by autologous dendritic cells in patients with chronic hepatitis B-restoration by exogenous interleukin-12. *Clin Exp Immunol* **130** : 107–114, 2002.
- 28) Horiike N, Akbar SMF, Ninomiya T, Abe M, Michitaka K, Onji M : Activation and maturation of antigen-presenting dendritic cells during vaccine therapy in patients with chronic hepatitis due to hepatitis B virus : *Hepatol Res* **23** : 38–47, 2002.
- 29) Akbar SMF, Horiike N, Onji M, et al. : Dendritic cells and chronic hepatitis virus carriers. *Intervirology* **44** : 199–208, 2001.
- 30) Akbar SMF, Horiike N, Onji M : Prognostic importance of antigen-presenting dendritic cells during vaccine therapy in a murine hepatitis B virus carrier. *Immunology* **96** : 98–108, 1999.
- 31) Akbar SMF, Kajino K, Tanimoto K, Kurose K, Masumoto T, Michitaka K, Horiike N, Onji M : Placebo-controlled trial of vaccination with hepatitis B virus surface antigen in hepatitis B virus transgenic mice. *J Hepatol* **26** : 131–137, 1997.
- 32) Akbar SMF, Abe M, Masumoto T, Horiike N, Onji M : Mechanism of action of vaccine therapy in murine hepatitis B virus carriers : vaccine-induced activation of antigen presenting dendritic cells. *J Hepatol* **30** : 755–764, 1999.
- 33) Oka Y, Akbar SMF, Horiike N, Joko K, Onji M : Mechanism and therapeutic potential of DNA-based immunization against the envelope proteins of hepatitis B virus in normal and transgenic mice : *Immunology* **103** : 90–97, 2001.
- 34) Akbar SMF, Furukawa S, Horiike N, Michitaka K, Onji M. (submitted).
- 35) Furukawa S, Akbar SMF, Hasebe A, Horiike N, Onji M. : Induction and maintenance of anti-HBs in immunosuppressed murine hepatitis B virus carrier by a novel vaccination approach : implication during liver transplantation in hepatitis B virus infected subjects J. *Gastroenterol* (in press).
- 36) Furukawa S, Akbar SMF, Hasebe A, Horiike N, Onji M. (submitted).
- 37) Akbar SMF, Furukawa S, Onji M, Murata Y, Niiya T, Kanno S, Murakami H, Horiike N. : Safety and efficacy of hepatitis B surface antigen-pulsed dendritic cells in human volunteers *Hepatol Res* (in press).
- 38) Hiasa Y, Horiike N, Akbar SMF, Saito I, Miyamura T, Matsuura Y, Onji M : Low stimulatory capacity of lymphoid dendritic cells expressing hepatitis C virus genes. *Biochem Biophys Res Commun* **249** : 90–95, 1998.
- 39) Kanto T, Hayashi N, Takehara T, et al. : Impaired allostimulatory capacity of peripheral blood dendritic cells recovered from hepatitis C virus-infected individuals. *J Immunol* **162** : 5584–5591, 1999.
- 40) Bain C, Fatmi A, Zoulim F, et al : Impaired al-

- lostimulatory function of dendritic cells in chronic hepatitis C infection. *Gastroenterology* **120** : 512–524, 2001.
- 41) Auffermann-Gretzinger S, Keffe EB, Levy S : Impaired dendritic cell maturation in patients with chronic, but not resolved, hepatitis C infection. *Blood* **97** : 3171–3176, 2001.
- 42) Sarobe P, Lasarte JJ, Casares N, et al. : Abnormal priming of CD4(+) T cells by dendritic cells expressing hepatitis C virus core and E1 proteins. *J Virol* **76** : 5062–5070, 2002.
- 43) Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, et al. : Autocrine/paracrine IL-15 that is required for type I IFN-mediated dendritic cell expression of MHC class I-related chain A and B is impaired in hepatitis C virus infection. *J Immunol* **15** : 5423–5429, 2003.
- 44) Jinushi M, Takehara T, Kanto T, et al. : Critical role of MHC class I-related chain A and B expression on IFN- α -stimulated dendritic cells in NK cell activation : impairment in chronic hepatitis C virus infection. *J Immunol* **170** : 1249–1256, 2003.
- 45) Yamamoto K, Akbar SMF, Masumoto T, Onji M : Increased nitric oxide (NO) production by antigen-presenting dendritic cells is responsible for low allogeneic mixed leucocyte reaction (MLR) in primary biliary cirrhosis (PBC). *Clin Exp Immunol* **114** : 94–101, 1998.
- 46) Longman RS, Talal AH, Jacobson IM, et al. : Presence of functional dendritic cells in patients chronically infected with hepatitis C virus. *Blood*, **103** : 1026–1029, 2004.
- 47) Rollier C, Drexhage JR, Verstrepen BE, et al. : Chronic hepatitis C virus infection established and maintained in chimpanzees independent of dendritic cell impairment. *Hepatology* **38** : 851–858, 2003.
- 48) Brady MT, MacDonald AJ, Rowan AG, et al. : Hepatitis C virus non-structural protein 4 suppresses Th1 responses by stimulating IL-10 production from monocytes. *Eur J Immunol* **33** : 3448–3457, 2003.
- 49) Tsubouchi E, Akbar SMF, Horiike N, et al. : Infection and dysfunction of circulating blood dendritic cells and their subsets in chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol* (in press).
- 50) Tsubouchi E, Akbar SMF, Murakami H, Horiike N, Onji M. (submitted).
- 51) Sevilla N, Kunz S, Holz A, et al. : Immunosuppression and resultant viral persistence by specific viral targeting of dendritic cells. *J Exp Med* **192** : 1249–1260, 2000.
- 52) Murakami H, Akbar SMF, Matsui H, Horiike N, Onji M. (submitted).
- 53) Matsuura Y, Tani H, Suzuki K, et al. : Characterization of pseudotype VSV possessing HCV envelope proteins. *Virology* **286** : 263–275, 2001.
- 54) Abe M, Akbar SMF, Horiike N, Onji M : Inability of liver dendritic cells from mouse with experimental hepatitis to process and present specific antigens : *Hepatol Res* **26** : 61–67, 2003.
- 55) Abe M, Akbar SMF, Horiike N, Onji M : Glycyrrhizin enhances interleukin-10 production by liver dendritic cells in mice with hepatitis. *J Gastroenterol* **38** : 962–967, 2003.
- 56) Ninomiya T, Akbar SMF, Masumoto T, Horiike N, Onji M : Dendritic cells with immature phenotype and defective function in the peripheral blood from patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* **31** : 323–331, 1999.
- 57) Kakumu S, Ito S, Ishikawa T, et al. : Decreased function of peripheral blood dendritic cells in patients with hepatocellular carcinoma with hepatitis B and C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* **15** : 431–436, 2000.
- 58) Chen S, Akbar SMF, Tanimoto K, Ninomiya T, Iuchi H, Michitaka K, Horiike N, Onji M : Absence of CD83-positive mature and Activated dendritic cells at cancer nodules from patients with hepatocellular carcinoma : relevance to hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* **148** : 49–57, 2000.
- 59) Homma S, Toda G, Gong J, et al. : Preventive antitumor activity against hepatocellular carcinoma (HCC) induced by immunization with fusions of dendritic cells and HCC cells in mice. *J Gastroenterol* **36** : 764–771, 2001.
- 60) Ladhams A, Schmidt C, Sing G, et al. : Treatment of non-resectable hepatocellular carcinoma with autologous tumor-pulsed dendritic cells. *J Gastroenterol Hepatol* **17** : 889–896, 2002.
- 61) Onji M, Akbar SMF, Horiike N : Dendritic cell-based immunotherapy for hepatocellular carcinoma : *J Gastroenterol* **36** : 794–797, 2001.
- 62) Kumagi T, Akbar SMF, Horiike N, et al. : Increased survival and decreased tumor size due to intratumoral injection of ethanol followed by administration of immature dendritic cells. *Int*

- J Oncol* **23** : 949–955, 2003.
- 63) Shinomiya M, Masumoto T, Nadano S, Akbar SMF, Onji M : Lymphoid dendritic cells in the liver of patients with primary biliary cirrhosis and its mouse model. *Hepatol Res* **1** : 84–94, 1998.
- 64) Tanimoto K, Akbar SMF, Michitaka K, Onji M : Immunohistochemical localization of antigen presenting cells in liver from patients with primary biliary cirrhosis : highly restricted distribution of CD83-positive activated dendritic cells. *Pathol Res Pract* **195** : 157–162, 1999.
- 65) Akbar SMF, Yamamoto K, Miyakawa H, Ninomiya T, Abe M, Hiasa Y, Masumoto T, Horiike N, Onji M : Peripheral blood T-cell responses to pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis : role of antigen-presenting dendritic cells : *Eur J Clin Invest* **31** : 639–646, 2001.
- 66) 本間 定, 玉城成雄, 榎本宏樹, ほか : 樹状細胞を用いた自己免疫性肝炎モデルにおける抗肝細胞膜抗体の検出. 肝臓, **41** : A193, 2000(抄録).
- 67) Hiasa Y, Akbar SMF, Abe M, Michitaka K, Horiike N, Onji M : Dendritic cell subtypes in autoimmune liver diseases; decreased expression of HLA DR and CD 123 on type 2 dendritic cells : *Hepatol Res* **22** : 241–249, 2002.
- 68) Huang YM, Yang JS, Xu LY, et al. : Autoantigen-pulsed dendritic cells induce tolerance to experimental allergic encephalomyelitis (EAE) in Lewis rats. *Clin Exp Immunol* **122** : 437–444, 2000.
- 69) Mahnke K, Knop J, Enk AH : Induction of tolerogenic DCs : 'you are what you eat'. *Trends Immunol* **24** : 646–651, 2003.