

ウルソデオキシコール酸(UDCA)の免疫調節作用 —抗原提示に及ぼすUDCAの影響—

奈良県立医科大学第3内科学教室

松村圭祐

ANALYSIS OF IMMUNOMODURATORY EFFECTS OF URSODEOXYCHOLIC ACIDS ON ANTIGEN PRESENTATION USING ANTIGEN SPECIFIC MONOCLONAL CELLS

KEISUKE MATSUMURA

The Third Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received July 28, 1994

Abstract: Effects of ursodeoxycholic acid (UDCA) on antigen presentation were investigated using monoclonal antigen presenting cells (APCs) and T cells. A mouse B cell lymphoma line expressing immunoglobulin M (IgM) specific for trinitrphenyl (TNP), a T hybridoma cell line specific for chicken ovalbumin (OVA) and TNP conjugated OVA (TNP-OVA) were used as APCs, T cells and an antigen, respectively. The T cells are known to release interleukin 2 (IL-2) and to obtain cytotoxic activities when they recognize the particular sequence of 17 amino acids of ovalubmin (OVA peptide) in the context of major histocompatibility gene product I-A^d molecules. UDCA suppressed IL-2 production and cytotoxic activities of T cells. These suppressed T cell functions were also observed when the OVA peptide was used instead of TNP-OVA. UDCA, however, did not reduce the spontaneous expression of either MHC class II molecules or TNP-specific IgM on the surface of APC. The capping and internalization of surface IgM during antigen exposure were not affected by UDCA. Furthermore, antigen-pulsed B cells in the presence of UDCA retained the ability of stimulating T cells. These results suggest that UDCA does not impair the function of antigen presenting cells and that UDCA may interfere with the recongnition of processed antigen by T cells in antigen presentation.

Index Terms

ursodeoxycholic acid, antigen presenting B cell, helper T cell, interleukin 2, T cell cytotoxicity

緒 言

近年、自己免疫機序により発症することが推定されている原発性胆汁性肝硬変(PBC)に対して、ジヒドロキシ胆汁酸であるウルソデオキシコール酸(UDCA)が有効であることが明かとなってきた^{1)~5)}。すなわち、PBCのUDCA治療においては、痒みなどの自覚症状および一般

肝機能検査所見の改善が認められており、加えて、上昇した血清IgM値の下降^{2),3),5)}や抗ミトコンドリア抗体価の低下⁵⁾などの免疫パラメーターの改善、胆管周辺のリンパ球浸潤の減少⁶⁾などの組織学所見の改善、さらに、肝細胞に異常発現した主要組織適合性遺伝子複合体(Major histocompatibility complex, MHC)クラスI抗原の消失^{6),7)}なども観察されている。従来、PBCにUDCA

が有効である機序として、UDCA 投与による血清胆汁酸組成の変化⁹⁾、UDCA の利胆作用⁹⁾および肝細胞膜保護作用¹⁰⁾が挙げられていたが、これらの作用だけでは、血清学的な免疫異常の改善および肝の組織学的改善は説明し難い。そこで、われわれは、UDCA が生体の免疫系にも作用していると推定し、この視点に立脚して、UDCA の immunomodulation について検討を重ね、これまでに UDCA によるヒトリンパ球の免疫グロブリン(Ig)産生の抑制作用ならびに T 細胞由来のサイトカイン産生に対する抑制作用を明かにしてきた¹¹⁾⁻¹³⁾。最近では、Calmus ら¹⁴⁾や Lacaille ら¹⁵⁾もリンパ球幼若化反応に及ぼす UDCA の影響を検討し、UDCA がリンパ球幼若化反応を抑制することを認めており、UDCA が免疫系に影響を及ぼすことは明らかとなってきた。

本研究では、著者は、UDCA の免疫調節作用を一層明らかにすべく、T 細胞依存性抗原に対する免疫現象の基本反応である抗原提示反応に及ぼす UDCA の影響について検討した。抗原提示反応における UDCA の作用を評価するために、既に著者らが報告したモノクローナルな細胞群を用いた抗原提示アッセイ系を使用した¹⁶⁾。すなわち、抗原提示細胞としてハブテンである trinitrophenyl(TNP)に特異的な Ig を表出する B 細胞腫、T 細胞として鶏卵白アルブミン(ovalbumin, OVA)特異的 T ハイブリドーマ細胞株、抗原として TNP を付加した OVA を用い、T 細胞の細胞障害活性および IL-2 産生を指標に抗原提示反応における UDCA の作用を解析した。PBC の成因・病態を考える上で根幹をなす異常は胆管の破壊であり、その機序としては T リンパ球による組織障害が推察されている¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。本研究において使用した T 細胞株は活性化されると IL-2 産生に加えて細胞障害活性も示すことが知られており²⁰⁾、この T 細胞株の活性化現象に及ぼす UDCA の影響を検討することは、PBC に対する UDCA の効果に関する免疫学的機序をより直接的に説明し得るものと考えられる。

実験方法

1. UDCA

UDCA としては、UDCA-Na(東京田辺製薬社製)を用い、最終濃度は 0, 0.01, 0.05, 0.1 mmol(mM)で使用した。使用 UDCA は、ガスクロマトグラフィーにて純度 99%以上であることが確認されている。

2. 細胞

T 細胞として鶏卵白アルブミン(ovalbumin, OVA)特異的 T ハイブリドーマ細胞株 3 DO 54.8(I-A^d restricted)^{18),21)}を、抗原提示細胞(Antigen presenting cell,

APC)としては Balb/c マウス由来 B リンパ腫株 A 20-2 J に遺伝子導入にて作製されたハブテントリニトロフェニル(trinitrophenyl, TNP)特異的な IgM(sIgM_{TNP})を表出する A 20-HL 株^{18),21)}を使用した。なお、3 DO 54.8 は活性化された際には、IL-2 産生に加えて細胞障害活性も示すことが知られており、また、その認識する抗原エピトープは、OVA の第 323 番から第 339 番のアミノ酸であることが既に判明している²⁰⁾。なお、これら 3 DO 54.8 および A 20-HL は、トロント大学免疫学教室の穂積信道博士より供与された。

3 DO 54.8 の細胞障害活性を評価する標的細胞としては、まず抗原提示細胞 A 20-HL を使用し、この他に、C57 BL/6N マウス由来 T リンパ細胞腫株 EL 4²²⁾、Balb/c マウス胎児肝由来肝癌細胞株 BNL 1 MEA. 7R. 1(A7R)²³⁾ およびヒト肝癌細胞株 PLC/PRF/5²⁴⁾を bystander 細胞として使用した。

3. 抗原

抗原としては、TNP を付加した OVA(TNP-OVA)あるいは OVA ペプチド(323-339 tyr)を、ともに最終濃度 2 μg/ml にて使用した。なお、OVA ペプチド C 末端の Tyr は、274 nm での吸光度による濃度測定を容易にするため付加した。Tyr の付加によりペプチドの抗原性が影響を受けないことは既に確認されている²⁵⁾。

4. フローサイトメトリーによる抗原提示細胞表面 IgM_{TNP}および I-A^d, I-E^dの定量

A 20-HL の表出する IgM_{TNP}量の定量には、A 20-HL (1×10⁵個)を氷上にてフルオロセイン(FITC)を結合したヤギ抗マウス免疫グロブリン μ 鎖抗体にて 30 分間処理し、3 回洗浄の後フローメトリー解析した。また、I-A^d量および I-E^d量の定量には、A 20-HL (1×10⁵個)を氷上にて、ビオチン結合抗 I-A^dモノクローナル抗体 MKD-6 またはビオチン結合 I-E^dモノクローナル抗体 14-4-5 S にて 30 分間処理し、3 回洗浄の後 FITC 結合アビジンをういフローメトリー解析した。

IgM_{TNP} および I-A^d, I-E^d の自然表出に及ぼす UDCA の影響の評価には、UDCA (0.1 mM) の存在あるいは非存在下で 24 時間培養した A 20-HL を用いた。

さらに、抗原 TNP-OVA 存在下において、A 20-HL の抗原の捕獲リガンドである sIgM_{TNP} の量的変化に及ぼす UDCA の影響を経時的に観察した。

5. 抗原提示アッセイと T 細胞活性化の評価

本研究に使用した抗原提示反応の schema を Fig. 1 に示す。既報の如く¹⁶⁾、96 穴平底プレートにて抗原(TNP-OVA または OVA ペプチド)、抗原提示細胞 1×10⁵個、T 細胞 5×10⁴個を 10% 牛胎児血清(FCS)を含む

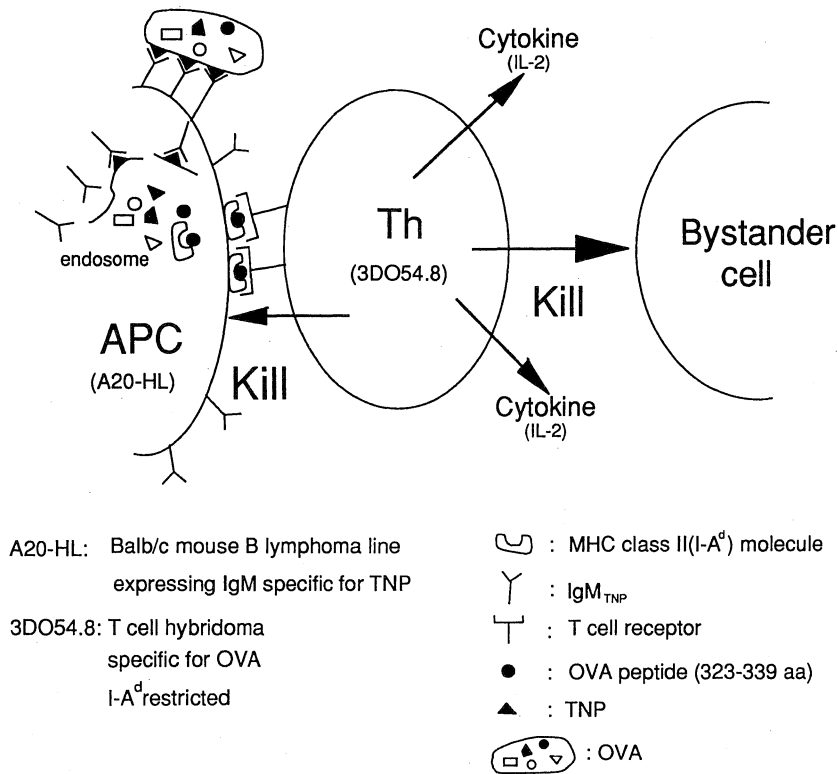


Fig. 1. Schema of antigen presentation using A20-HL cells as antigen presenting cells (APCs), 3DO54.8 as helper T cells and TNP-OVA as an antigen.

RPMI 1640 培養液(日水製薬社製)200 μ l 中で培養した。この際、UDCA を最終濃度 0, 0.01, 0.05, 0.1 mM となるように添加し、24 時間培養後の培養上清を IL-2 測定試料とした。

抗原提示過程における UDCA の作用部位を推定するため、抗原提示細胞および T 細胞に及ぼす UDCA の影響についても検討した。すなわち、抗原提示細胞 1×10^5 個を UDCA (0.1 mM) の存在または非存在下において、抗原 TNP-OVA (2 μ g/ml) を含む RPMI 1640 培養液にて 180 分間培養し、洗浄の後、T 細胞 5×10^4 個と共に、再び 0.01 mM の UDCA の存在あるいは非存在下において、10% FCS を含む RPMI 1640 培養液 200 μ l 中で 24 時間培養し、培養上清中の IL-2 活性を測定した。

6. T 細胞活性化の評価

T 細胞活性化の評価として、培養上清中の IL-2 活性を IL-2 dependent cell line (CTL L-2) の DNA 合成を指標に測定した。すなわち、透析により培養上清より UDCA を除去した後、この IL-2 含有上清 20 μ l を CTL L-2 1×10^4 個を含む RPMI 1640 培養液 100 μ l 中に加え培養し、培養開始後 20 時間後に 1 kBq の [³H] -

Thymidine (TdR) を加え、さらに 4 時間のパルスの後 TdR の取り込みを測定した。データは triplicate の平均である。

T 細胞活性化のもうひとつの評価として、T 細胞の細胞障害活性を検討した。3 DO 54.8 は活性化された際、抗原提示細胞である A 20-HL および bystander 細胞に対し細胞障害性を示すことが知られている²⁰。そこで、これらの標的細胞に対する 3 DO 54.8 の細胞障害活性を ⁵¹Cr release assay にて検討した。まず、A 20-HL に対する 3 DO 54.8 の細胞障害活性は、A 20-HL を 100 kBq の Na₂CrO₄ (1 MBq/ml, Amersham) 37°C で 1 時間標識し、RPMI 1640 培養液にて 3 回洗浄の後抗原提示細胞として使用した。すなわち、V 底 96 穴マイクロプレートを用い、⁵¹Cr 標識した抗原提示細胞 1×10^5 個を抗原および T 細胞 5×10^4 個と共に 10% FCS を含む RPMI 1640 培養液 200 μ l 中で、UDCA の存在下あるいは非存在下で培養し、培養 16 時間後の培養上清 100 μ l を採取し γ -シンチレーションカウンターで上清中の放射活性を測定した。つぎに、bystander 細胞に対する 3 DO 54.8 の細胞障害活性は、⁵¹Cr 標識した bystander 細胞 1×10^4 個を抗原、

抗原提示細胞 1×10^5 個, T 細胞 5×10^4 個を含む 10% FCS 含有 RPMI 1640 培養液 200 μ l 中で, UDCA の存在下あるいは非存在下で培養し, 培養 16 時間後の培養上清 100 μ l の放射活性を測定した. なお, % cytotoxicity は次式により算出した.

$$\% \text{ cytotoxicity} = \{(a - b) / (c - b)\} \times 100$$

ただし a : 実験群遊離放射活性

b : 自然遊離放射活性

c : 最大遊離放射活性

なお, 自然遊離群には ^{51}Cr 標識細胞浮遊液 100 μ l に 100 μ l の培養液を, また最大遊離放射活性には ^{51}Cr 標識細胞浮遊液 100 μ l に 1% Triton X-100 を 100 μ l 加えて放射活性を測定した.

7. NK 活性および LAK 活性に及ぼす UDCA の影響

健康成人の末梢血単核球は Ficoll-Conray を用いた遠心分離により採取し, リコンビナント IL-2 (1000 IU/ml) とともに種々の濃度の UDCA の存在のもとで 10% FCS を含む RPMI 1640 培養液中にて 72 時間培養した後, K562 細胞および Dauji 細胞に対する細胞障害性を

^{51}Cr release assay にて検討した.

結 果

1. T 細胞活性化現象に及ぼす UDCA の影響

抗原として TNP-OVA を用い, 抗原提示細胞および T 細胞からなる既述の抗原提示アッセイ系に UDCA を添加することにより, T 細胞の IL-2 産生は, 濃度依存性に抑制された (Fig. 2, left). また, 抗原提示細胞に対する T 細胞の細胞障害活性も, UDCA の添加により抑制され, その抑制は UDCA 濃度依存性であった (Fig. 2, right).

Bystander 細胞に対する T 細胞の細胞障害活性に対しても UDCA は抑制的に作用した (Table 1).

2. 抗原提示細胞 A 20-HL における MHC クラス II 抗原および IgM_{TNP} の自然表出に及ぼす UDCA の影響

UDCA 0.1 mM の存在下で A 20-HL を 24 時間培養しても, I-A^d および sIgM_{TNP} の表出は影響をうけなかった (Fig. 3). また, A 20-HL の I-E^d 表出も UDCA により影響をうけなかった (data not shown).

3. 抗原 TNP-OVA の存在下における抗原提示細胞

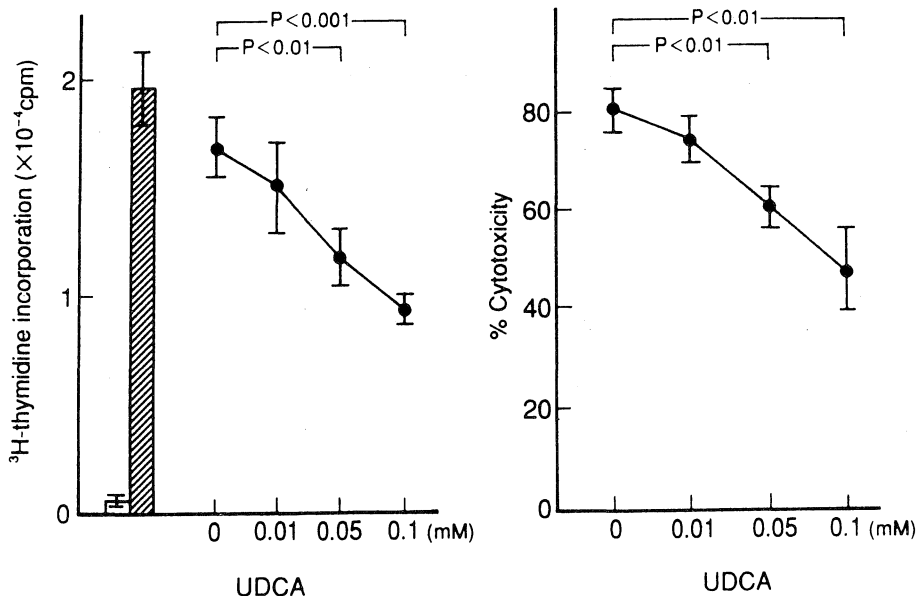


Fig. 2. Effects of UDCA on IL-2 production and cytotoxicity of T cells.

APCs and T cells were cocultured with TNP-OVA (2 μ g/ml) in the presence or absence of UDCA. IL-2 activities of the supernatants were determined by DNA synthesis of CTL.L-2 cells. Open and hatched bars were represented [^3H] thymidine incorporation of CTL.L-2 cells incubated in medium alone and in medium containing 1000 U/ml of recombinant IL-2 (Takeda Chemical Industries, Osaka), respectively (left). Cytotoxic activities of T cells were estimated by ^{51}Cr release from APCs (right).

A 20-HL の IgM_{TNP} 表出に及ぼす UDCA の影響

A 20-HL の抗原の捕獲リガンドである細胞表面 IgM_{TNP} 量は、UDCA (0.1 mM) の有無にかかわらず、抗原 TNP-OVA (2 μg/ml) の存在により経時的に減少し、そ

Table 1. Effects of UDCA on T cell cytotoxicities to bystander cells

Bystander cells	Presence(+) or absence(-)		⁵¹ Cr release (%)
	TNP-OVA	UDCA	
EL4	-	-	-3
	-	+	2
	+	-	70
	+	+	32
A7R	-	-	2
	-	+	2
	+	-	61
PLC/PRF/5	+	+	29
	-	-	1
	-	+	0
	+	-	39
	+	+	19

の現象は UDCA により影響をうけなかった (Fig. 4).

4. 抗原提示過程における UDCA の影響

UDCA の存在下で抗原 TNP-OVA に暴露された A 20-HL は、UDCA の非存在下で抗原暴露された A 20-HL と同程度に T 細胞 3 DO 54.8 の IL-2 産生を誘導し得た。しかし、抗原提示細胞 A 20-HL が T 細胞と接触する過程に UDCA が存在する場合には、T 細胞の IL-2 産生は抑制された (Table 2).

5. OVA ペプチドを用いた抗原提示における T 細胞活性化現象に及ぼす UDCA の影響

抗原として OVA ペプチドを用い、抗原、抗原提示細胞および T 細胞からなる抗原提示アッセイ系に UDCA を添加し、T 細胞の IL-2 産生および細胞障害活性に及ぼす UDCA の影響を検討した。T 細胞の IL-2 産生および APC に対する細胞障害活性は、ともに UDCA 濃度依存性に抑制された (Fig. 5).

6. NK 活性および LAK 活性に及ぼす UDCA の影響

UDCA は 10 μM 以下の濃度では NK および LAK 両

Table 2. Effects of UDCA treatment of antigen presenting T cells and T cells on antigen presentation

Presence(+) or absence(-) of 0.1 mM of UDCA during antigen exposure to APC	Presence(+) or absence(-) of 0.1 mM of UDCA during T cell recognition	IL-2 production ³ H-thymidine uptake of CTLL-2
-	-	18086 ± 1180
-	+	10116 ± 941*
+	-	16946 ± 1442
+	+	9771 ± 686*

*; p < 0.01

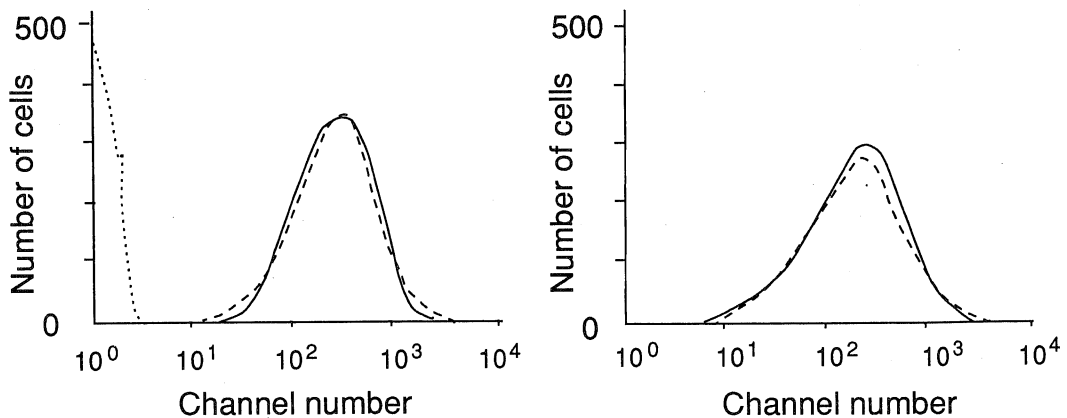


Fig. 3. Effects of UDCA on spontaneous expression of surface IgM_{TNP} and I-A^d on A20-HL cells.

Cells were incubated for 24 h in the presence (—) or absence (---) of UDCA and the expression of IgM_{TNP} (left) and I-A^d (right) were quantitated by fluorimetric procedure. A20-2J cells (-----) do not express IgM.

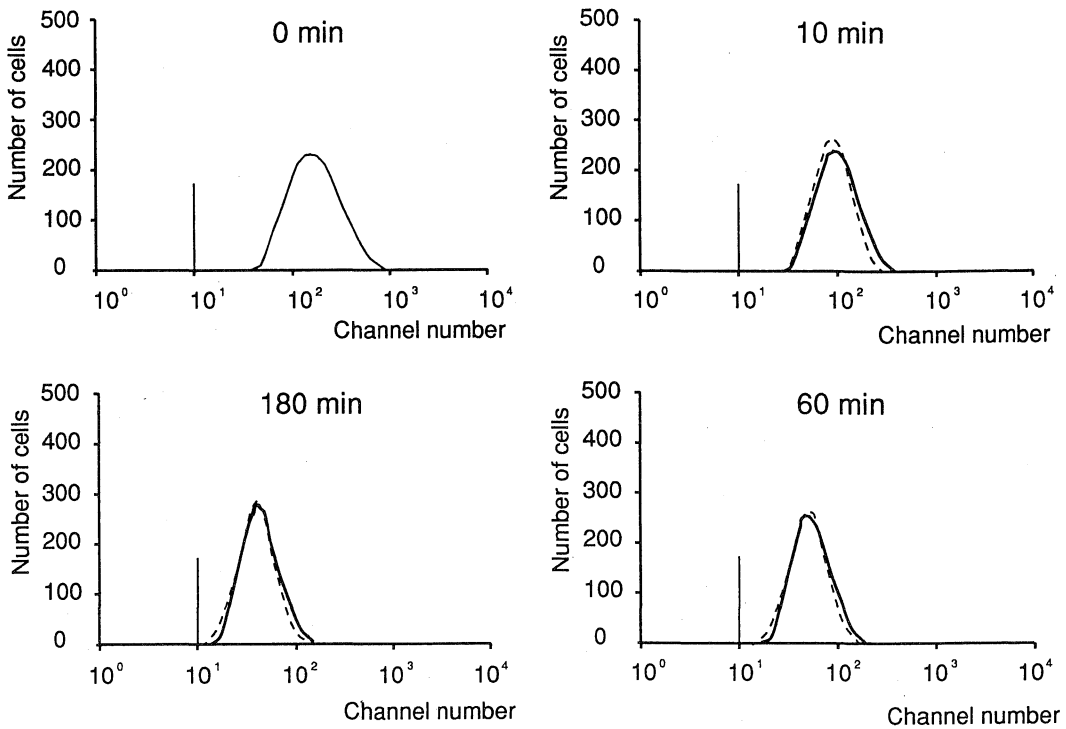


Fig. 4. Effects of UDCA on the expression of IgM_{TNP} during antigen exposure.

A20-HL cells were incubated with TNP-OVA (2 μg/ml) in the presence (—) or absence (-----) of UDCA for 10, 60 or 180 min and stained with FITC-conjugated anti-mouse μ antibody.

活性にほとんど影響を与えなかったが、50, 100 μM では両活性を低下させた (Table 3).

考 察

われわれは、これまでに UDCA の免疫系に及ぼす影響について検討を重ね、UDCA がリンパ球による Ig 産生を抑制することおよび IL-2, IL-4, インターフェロンガンマ (IFNγ) などの T 細胞由来のサイトカイン産生を抑制することなどを明らかにしてきた¹¹⁾⁻¹³⁾。これらの成績は、PBC の UDCA 治療時にみられる免疫学的パラメーターの改善、肝組織像の改善を免疫学的な見地からの説明を可能とするものであった。まず、UDCA が B リンパ球の Ig 産生を抑制することは、PBC の UDCA 治療時に認められる上昇している血中 IgM 値の下降や抗ミトコンドリア抗体の陰性化を説明することが可能である。さらに、UDCA が IFNγ などの T 細胞由来のサイトカイン産生を抑制することで、炎症組織における MHC クラス I および II の異常発現が抑えられ、PBC の肝障害の主因を成す細胞障害性 T 細胞 (CTL) による胆管あるいは肝細胞に対する障害が軽減されている可能性が考えら

Table 3. Effects of UDCA on LAK and NK activities

	Effector : Target ratio	UDCA (mM)			
		0	0.01	0.05	0.1
NK activity	3 : 1	10.6	9.6	9.2	5.4*
	10 : 1	59.4	47.4*	42.9**	32.5**
	30 : 1	76.7	72.2	68.8*	54.7**
LAK activity	3 : 1	4.2	3.8	4.2	4.0
	10 : 1	40.7	36.1	32.4*	29.4*
	30 : 1	72.7	69.0	63.1*	56.1**

Each data was compared with that in the absence of UDCA. *, p < 0.05, **, p < 0.01

れる。

さて、著者らは、非特異的リンパ球刺激物質に対する T・B リンパ球の反応性に及ぼす UDCA の影響を指標として UDCA の免疫調節作用を評価してきた。すなわち、ヒトリンパ球の Ig 産生には B リンパ球刺激物質である Staphylococcus aureus Cowan I を用い、T リンパ球のサイトカイン産生には Phytohemagglutinin や Concanavalin A などの刺激物質を使用した。しかし、実際

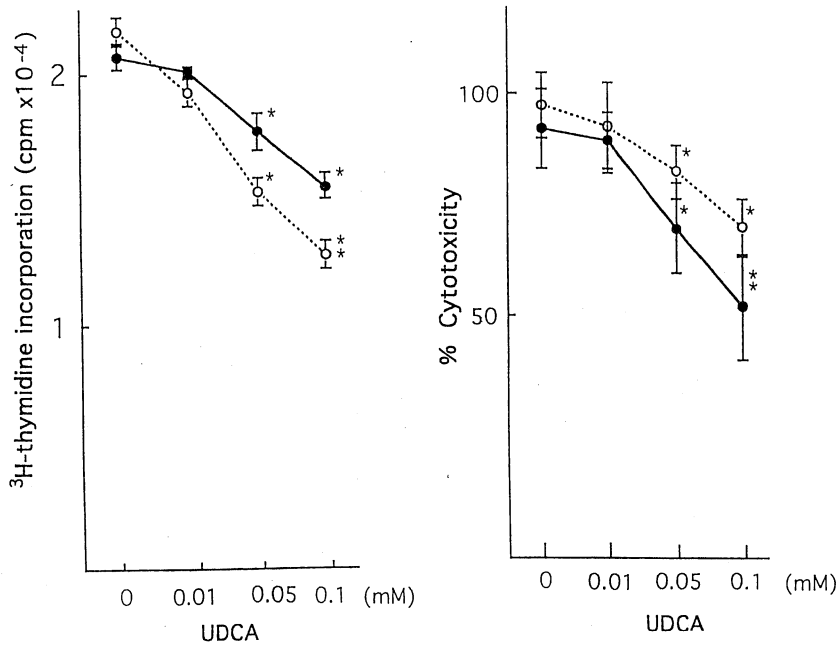


Fig. 5. UDCA suppress T cell activation by OVA-peptide.

UDCA suppressed IL-2 production and cytotoxic activities of T cells when OVA-peptide (-----) was used as an antigen instead of TNP-OVA (——).

Data were compared with those in the absence of UDCA. *p < 0.05, **P < 0.01

の生体の場にあつては、非特異的に免疫系は活性化されているのではなく、何らかの特異抗原がマクロファージなどの抗原提示細胞により対応するレパートリーの抗原特異的T細胞群に提示されることで、ほとんどのT細胞依存性免疫反応が形成されている。

そこで、本研究では、著者は、抗原が抗原提示細胞により抗原特異的Tリンパ球に提示されTリンパ球が活性化される一連の抗原提示過程にUDCAがどのように影響するかを、モノクローナルな細胞群を使用した抗原提示アッセイ系を用いて解析した。本アッセイにおいて、使用したT細胞は活性化された際、IL-2を産生するとともに、細胞障害活性を獲得することが知られており、T細胞による細胞障害活性に対するUDCAの作用を評価することが可能である。また、このT細胞の認識する抗原エピトープのアミノ酸配列は既知であり、このエピトープに一致するよう人工合成したペプチドを用いることにより、抗原提示細胞による抗原の取り込み・分解の過程をスキップしてT細胞を活性化することも可能である。

本抗原提示アッセイ系を用いて得た成績では、まず、UDCAは確かにT細胞のIL-2の産生および細胞障害活

性を抑制することが認められた。つぎに、抗原提示細胞の抗原の捕獲および細胞内での酵素的分解(proteolytic processing)に及ぼすUDCAの影響を検討したところ、抗原提示細胞A20-HLの抗原捕獲にUDCAは影響せず、A20-HL表面上のIgM_{TNP}量は減少した。また、抗原を捕獲し細胞内に取り込んだA20-HLは、T細胞3DO54.8にIL-2産生を誘導し得たが、抗原提示細胞とT細胞が接触する過程にUDCAが存在すると、IL-2産生量は低下した。これらの成績から抗原提示におけるUDCAの作用としては、UDCAは抗原提示細胞の抗原の捕獲・分解に影響するのではなく、むしろ、T細胞に直接使用して活性化を抑制するか、あるいは、抗原提示細胞表面の抗原ペプチドとクラスII分子複合体の安定化を阻害することにより、T細胞による抗原認識過程を抑制するものと考えられた。さらに、抗原提示細胞の抗原の捕獲・分解に影響をうけないOVAペプチドを抗原として使用した場合においても、T細胞の活性化はUDCAにより抑制されることから、少なくともUDCAの作用点は抗原提示細胞の抗原処理機能にあるのではなく、やはり、T細胞自身あるいはT細胞による抗原認識

過程にあると推定された。

本研究で、UDCA が T リンパ球の抗原提示細胞および bystander 細胞に対する細胞障害活性を抑制することが明らかとなった。PBC においては、その病因として、T リンパ球が自己胆管上皮表面上の何らかのペプチド抗原分子を認識し、胆管上皮を傷害することで胆管破壊をきたすと考えられている¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。したがって、UDCA の投与により胆汁酸組成が変化し、血中 UDCA 分画が増加することにより、UDCA が細胞障害性 T リンパ球の組織障害性を低下させている可能性が考えられる。さらに、著者は、リンパ球の細胞障害活性に及ぼす UDCA の影響として、NK 活性および LAK 活性に及ぼす UDCA の影響についても検討を加えたところ、やはり UDCA は両活性に対しても抑制的に作用することを認めている。

本研究で著者が明らかにした UDCA の T リンパ球細胞障害活性抑制作用を、既に著者らの報告した UDCA の immunomodulatory effects に加え、UDCA の免疫系への影響を schematic に Fig. 6 に図示する。UDCA 投与時には UDCA が胆汁酸であるという特性上、末梢血に比べて門脈血において高い濃度が得られ、門脈血の供給を肝が受けることから、UDCA の免疫調節作用は、とくに肝で作動すると考えられる。事実、肝炎に対する UDCA の有用性は、PBC の他にもウイルス性慢性肝炎²⁶⁾⁻²⁸⁾、自己免疫性肝炎²⁹⁾および肝移植後の graft-versus-host 反応³⁰⁾などでも知られ、これらの肝疾患はどれも T リンパ球が肝障害の主因を成すと考えられている。

結 語

UDCA による T 細胞活性化の抑制機序をモノクローナルな細胞群を使用した抗原提示アッセイを用いて検討し、以下の結果を得た。

1. UDCA は、T 細胞の IL-2 産生および細胞障害活性に対し抑制的に作用した。
2. UDCA は、抗原提示細胞の抗原の取り込みおよび細胞内での分解(プロセッシング)過程に影響を及ぼさなかった。
3. UDCA は、ペプチド抗原による T 細胞の活性化に対しても抑制的に作用した。

以上の成績より、UDCA の抗原提示における作用部位は抗原提示細胞ではなく、おそらく抗原提示細胞上に表出された抗原の T 細胞による認識過程あるいは T 細胞そのものであると考えられた。

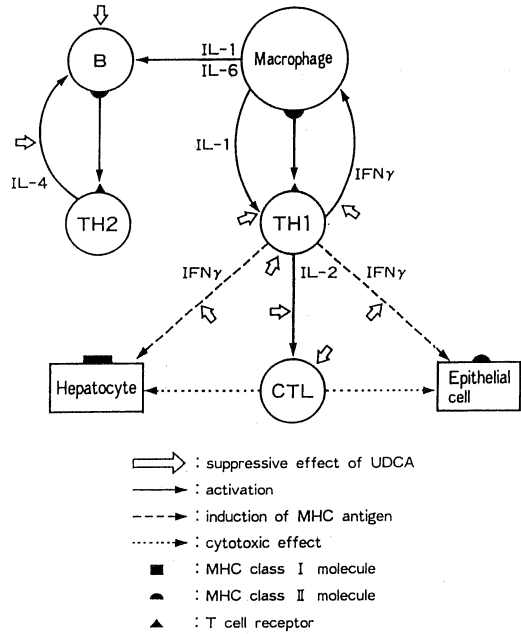


Fig. 6. Schema of immunomodulatory effects of UDCA on immune system.

稿を終えるに当たり、御指導御校閲をいただきました恩師辻井 正教授ならびに御助言、御校閲を賜った、病態検査学教室中野 博教授、細菌学教室榎葉周三教授に深甚なる謝意を表しますとともに、さらに研究遂行にあたり御協力いただきました病態検査学教室吉川正英博士、寄生虫学教室石坂重昭博士ならびに第 3 内科学教室諸兄に感謝いたします。

本研究の一部は文部省科学研究費補助金の助成によった。また、本研究の要旨は第 28 回日本肝臓学会総会(平成 4 年 6 月、東京)において発表した。

文 献

- 1) Poupon, R., Chrétien, Y., Poupon, R. E., Ballet, F., Calmus, Y. and Darnis, F.: Is ursodeoxycholic acid an effective treatment for primary biliary cirrhosis? *Lancet* i: 834-836, 1987.
- 2) Leuschner, U., Fischer, H., Kurtz, W., Güldütuna, S., Hübner, K., Hellstern, A., Gatzert, M. and Leuschner, M.: Ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis; Results of a controlled double-blind trial. *Gastroenterology* 97: 1268-1274, 1989.
- 3) Oka, H., Toda, G., Ikada, Y., Hashimoto, N.,

- Hasumura, Y., Kamimura, T., Ohta, Y., Tsuji, T., Hattori, N. and Namihisa, T. : A multi-center double-blind controlled trial of ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis. *Gastroenterol. Jpn.* **25** : 774-780, 1990.
- 4) Hadziyannis, S. J., Hadziyannis, E. S. and Makris, A. : A randomized controlled trial of ursodeoxycholic acid(UDCA)in primary biliary cirrhosis(PBC). *Hepatology* **10** : 580-585, 1989.
- 5) Poupon, R. E., Balkau, B., Eschwège, E., Poupon, R. and the UDCA-PBC study group : A multicenter, controlled trial of ursodiol for the treatment of primary biliary cirrhosis. *N. Engl. J. Med.* **324** : 1548-1554, 1991.
- 6) Calmus, Y., Gane, P., Rouger, P. and Poupon, R. : Hepatic expression of class I and class II major histocompatibility complex molecules in primary biliary cirrhosis: effect of ursodeoxycholic acid. *Hepatology* **11** : 12-15, 1990.
- 7) Terasaki, S., Nakanuma, Y., Ogino, H., Unoura, M. and Kobayashi, K. : Hepatocellular and biliary expression of HLA antigens in primary biliary cirrhosis before and after ursodeoxycholic acid therapy. *Am. J. Gastroenterol.* **86** : 1194-1199, 1991.
- 8) Poupon, R. E., Chrétien, Y., Poupon, R. and Paumgartner, G. : Serum bile acids in primary biliary cirrhosis; Effects of ursodeoxycholic acid therapy. *Hepatology* **17** : 599-604, 1993.
- 9) Kitani, K. and Kanai, S. : Effect of ursodeoxycholate on bile flow in the rat. *Life Science* **31** : 1973-1985, 1982.
- 10) 向坂彰太郎, 案納弘子, 神代龍吉, 吉田 博, 長田英輔, 谷川久一 : ケノデオキシコール酸とウルソデオキシコール酸の培養肝細胞に対する影響と polyenphosphatidyl choline による肝細胞保護作用について. *肝臓* **25** : 350-358, 1984.
- 11) Yoshikawa, M., Tsujii, T., Matsumura, K., Yamao, J., Matsumura, Y., Kubo, R., Fukui, H. and Ishizaka, S. : Immunomodulatory effects of ursodeoxycholic acid on immune responses. *Hepatology* **16** : 358-364, 1992.
- 12) 吉川正英, 松村圭祐, 久保良一, 山尾純一, 松村吉庸, 石坂重昭, 辻井 正 : ウルソデオキシコール酸の免疫グロブリン産生抑制効果—PBC 治療との関連において. *肝臓* **31** : 1138, 1990.
- 13) 吉川正英, 松村圭祐, 山尾純一, 松村吉庸, 久保良一, 福井 博, 石坂重昭, 辻井 正 : Ursodeoxycholic Acid のリンパ球機能に及ぼす影響—免疫グロブリン産生, サイトカイン産生を中心に. *臨床胆汁酸研究の進歩*(亀田治男, 山中正己編). 医療ジャーナル社, 大阪, p 29-34, 1993.
- 14) Calmus, Y., Weill, B., Ozier, Y., Chéreau, C., Houssin, D. and Poupon, R. : Immunosuppressive properties of chenodeoxycholic and ursodeoxycholic acids in the mouse. *Gastroenterology* **103** : 617-621, 1992.
- 15) Lacaille, F. and Paradis, K. : The immunosuppressive effect of ursodeoxycholic acid : A comparative in vitro study on human peripheral blood mononuclear cells. *Hepatology* **18** : 165-172, 1993.
- 16) 吉川正英, 北神敬司, 松村圭祐, 福井 博, 石坂重昭, 辻井 正, 穂積信道 : 抗原特異的 B 細胞を用いた抗原提示に関する基礎的研究. *奈良医学雑誌* **44** : 137-145, 1993.
- 17) Gershwin, M. E. and Mackay, I. R. : Primary biliary cirrhosis; Paradigm or paradox for autoimmunity. *Gastroenterology* **100** : 822-833, 1991.
- 18) Mackay, I. R. and Gershwin, M. E. : Primary biliary cirrhosis; Current knowledge, perspective, and future directions. *Semin. Liver Dis.* **9** : 149-157, 1989.
- 19) Yamada, G., Hyodo, I., Tobe, K., Mizuno, M., Nishihara, T., Kobayashi, T. and Nagashima, H. : Ultrastructure and immunocytochemical analysis of lymphocytes infiltrating bile duct epithelia in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* **6** : 385-391, 1986.
- 20) Watanabe, M., Yoshikawa, M. and Hozumi, N. : Cytotoxic function of a cloned helper T cell line. *Immunology Letters* **15** : 133-138, 1987.
- 21) Watanabe, M., Wegman, D. R., Ochi, A. and Hozumi, N. : Antigen presentation by a B-cell line transfected with cloned immunoglobulin heavy-and light-chain gene specific for a defined hapten. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83** : 5247, 1986.
- 22) Farrar, J., Fuller - Farrar, J., Simon, P. L., Hilficker, M. L., Stadler, B. M. and Farrar, W.

- L. : Thymoma production of T cell growth factor(interleukin 2). *J. Immunol.* **125** : 2555, 1980.
- 23) **Paul, Q. P., John, L. C. and Melvin, C.** : Transformed cell lines susceptible or resistant to in vivo surveillance. against tumorigenesis. *Nature* **276** : 510-511, 1978.
- 24) **Alexander, J. J., Bey, E. and Geddes, E. W.** : Establishment of a continuously growing cell line from a primary carcinoma of the liver. *S. Afr. Med. J.* **50** : 2124, 1976.
- 25) **Watts, T. H., Garipey, J., Schoolnik, G. and McConell, H. M.** : T-cell activation by peptide antigen : effect of peptide sequence and method of antigen presentation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82** : 5480, 1985.
- 26) **Podda, M., Ghezzi, C., Battezzati, P. M., Crosignani, A., Zuin, M. and Roda, A.** : Effects of ursodeoxycholic acid and taurine on serum liver enzymes and bile acids in chronic hepatitis. *Gastroenterology* **98** : 1044-1050, 1990.
- 27) **Bellentani, S., Tabarroni, G., Barchi, T., Feretti, I., Fratti, N., Villa, E. and Manenti, F.** : Effect of ursodeoxycholic acid treatment on alanine aminotransferase and γ -glutamyltranspeptidase serum levels in patients with hypertransaminasemia. *J. Hepatol.* **8** : 7-12, 1989.
- 28) 滝川 一, 山中正己 : 慢性肝炎の Ursodeoxycholic Acid 療法 臨床胆汁酸研究の進歩(亀田治男, 山中正己編). 医薬ジャーナル社, 大阪, p 44-50, 1993.
- 29) 美馬聰昭, 関谷千尋, 金川博史, 香山明一, 後藤賢一郎, 水尾仁志, 田辺利男 : 自己免疫性肝炎におけるウルソデオキシコール酸の効果. *肝臓* **34** : 849-850, 1993.
- 30) **Fried, R. H., Murakami, C. S., Wilson, R. A., Sullivan, K. M. and McDonald, G. B.** : Chronic graft-vs.-host disease of the liver ; another indication of ursodeoxycholic acid? *Ann. Intern. Med.* **116** : 624-629, 1992.