

# 実験的ビールス性肝炎の免疫血清学的研究

## 第 2 編

### 感染アレルギーにおける臓器細胞の反応性に関する免疫血清学的検討

岡山大学医学部第一内科教室主任：小坂淳夫教授

相 坂 忠 一

【昭和 37 年 9 月 26 日】

#### 緒 言

人のビールス性肝炎の経過中に、一部の症例に Lupoid Hepatitis<sup>1)2)</sup>、一価の抗体による溶血性貧血の出現<sup>3)</sup>、また肝自己抗体を含む諸臓器自己抗体の出現<sup>4)5)</sup>等、自己免疫現象、自己臓器アレルギーを思わす過程が惹起されることについては、臨床的にも注目され、肝炎慢性化機序との関連をも含めて自己免疫現象の病因的意義、ことに肝自己抗体の臓器アレルギー機作に対する役割についても論議のあるところである。

自己アレルギーにおいて主要な自己抗体の局在性の問題も肝病変の局在と関連して、受身伝達<sup>6)</sup> Azo 色素標識法<sup>7)8)</sup>、螢光抗体法<sup>9)10)</sup>及び同位元素<sup>11)</sup>等によつて検討されているが、炎症過程に成立した自己免疫現象時の生体の実質臓器細胞の病態生理、免疫細胞学的態度については、なお解明されなければならない多くの問題点を有している。

著者は人の流行性肝炎ビールスが分離固定されていない今日、Model 実験としてエクトロメリア・ビールス（以下エ・ビールスと略す）接種によるマウスのビールス性肝炎を選び検討した結果、接種ビールス量が少い場合、感染後期では自己体内において変調修飾された自己臓器による自己感作によつて、自己免疫現象が成立し、血清学的にも、病理組織学的にも興味ある動態がえられたことを第 1 編において報告したが、本編では感染後期で血中に肝自己抗体のみられる時期の肝実質細胞の細胞レベルにおける免疫細胞学的病態について、超生体環境下で位相差顕微鏡法によつて観察し、さらにこの時期の体液性要素（肝自己抗体等）の生物学的意義についても同様に超生体環境下で観察し、被働性移行及び被働性移行後のエ・ビールス負荷による感染に対する態度等についても検討を加えた。

#### 実験材料及び実験方法

##### 1. 実験動物、及び使用ビールス

第 1 編実験材料及び実験方法、1 及び 2 と同様に 10~20g の健康市販マウスを用い、毎日、オリエンタル M 7 号固形飼料で飼育し、汚染、混合感染の防止に努めた。

使用ビールスは本学微生物学教室より分与をうけた Hampstead 株のエ・ビールスをマウス腹腔に接種し、発症極期の感染マウス肝を無菌的に採取し、滅菌 Tyroae 氏液（T. 液と略す、以下同じ）乳剤として、当該乳剤を累代接種後、毒力の固定した発症極期のビールス感染マウス肝 T. 液乳剤を接種ビールス原液とした。

##### 2. 超生体環境における位相差顕微鏡法による観察。

マウス股動脈より放血致死させた後、出来るだけ無菌的に採取した肝臓片を、眼科用剪刀で細切し、ガラス棒で碎き、生理食塩水で数回洗滌遠沈して待た肝細胞を T. 液に浮遊して観察後、約 2 滴の 0.01% Neutral red, Janus green 量混合液と同じく浮遊液の約 1/10 量の諸種抗血清、もしくは 5% T. 液抽出諸種抗原を混じ、37°C に 1~4 時間静置して、主として Dark medium（一部 Bright medium をも用う）で位相差鏡検により、核、及び細胞顆粒形質の形態的及び染色性の変化について、37°C の恒温箱で観察した。

なお一部 Forkner の方法<sup>15)</sup>に従つて調製した Neutral red と Janus green の超生体染色液を Film した載せガラス上で肝細胞 T. 液浮遊液に前記同様、諸種抗血清もしくは抗原を作用させて観察した。

なお肝脾の病理組織所見は第 1 編におけると同様に Carnoy 氏固定液、もしくは 10% Formalin 固

定によつて型の如く、Hematoxylin-Eosin 染色によつて鏡検した。

### 3. 抗原の調製と抗体価測定法

第1編と同様に10% T. 液抽出健常マウス肝抗原等を調製し、アメリカ陸軍軍医学校法<sup>12)</sup>による補体結合反応法で肝自己抗体等の各種抗血清の補体結合抗体価を測定した。

## 実 験 成 績

### 1. 感染アレルギーにおける肝細胞

エ・ビールス接種量  $10^{10}$  稀釈 0.1ml の場合、発症も殆んどみられず、肝組織所見において Hematoxylin-Eosin 染色及び Pyronin-Methylgreen 染色によつて何等有意の変化が認められず、血中抗体の出現の少い17病日、および血中に肝自己抗体等が

出現する28病日の肝細胞（この際は形態的に異常はみられないが）の反応性的変化を超生体環境下の位相差鏡検法で観察すると表1のとおりで、健常マウス肝細胞に10%健常マウス肝 T. 液抽出抗原を作用させた正常対照では、超生体環境下で約4時間の観察の結果、殆んど変化を認めなかつたのに反し、これらの肝細胞ではいずれもかなり明瞭な反応性的変化を示し、殊に28病日の肝細胞は17病日のそれに比べてやや反応性が強く、健常マウス肝抗原対して、原形質中心域の膨化に始まり、外縁部を含めて全般に Mitochondria 粗大化、軽度の Storage granula の不同を生じ、3~4時間後には中心域に僅かに Blister 形成を認め、染色性も Blister は中性赤に不染であるが、顆粒形質は明らかな好染性を示すようになる。この変化はさらに高い抗体価 (1:64) を

表1 感染アレルギーにおける肝細胞の反応性 (位相差鏡検)

(I ビールス:エクトロメリア, ビールス)

被検細胞 所見	エ・ビールス少量 ( $10^{10}$ 稀釈 0.1ml) 接種マウス 17病日肝実質細胞	I. ビールス少量 接種マウス 28病日肝実質細胞	卵白アルグミン感 作マウス 肝実質細胞	同種肝感作マウス 肝実質細胞	対 照 健常マウス 肝実質細胞
	作用物質	+10%健常マウス 肝抗原 (A) (+抗モルモット 肝家兎血清) (B)	+10%健常マウス 肝抗原 (A) (+抗モルモット 肝家兎血清) (B)	+10%卵白アルグ ミン液 (A) (+抗モルモット 肝家兎血清) (B)	+10%健常マウス 肝抗原 (A) (+抗モルモット 肝家兎血清) (B)
観察条件	37°C 3~4時間	37°C 3~4時間	37°C 3~4時間	37°C 3~4時間	37°C 3~4時間
核	核 膜	鮮 明	鮮 明	鮮 明	鮮 明
	核 小 体	(+)	(+)	(+)	(+)
原	膨 化	中心域(+) ~(-)	中心域(+)	中心域(±) ~(-)	中心域(±) ~(-)
	Mitochondria の膨化	(+)外縁部 ~(±)	(+)全域 ~(++)	(±)外縁部	(+)外縁部 凝縮
形	Storage Granula	ほぼ正常	大小不同(±)	ほぼ正常	大小不同(±)
	Blister 形 成	(-)	(-)中心域 ~(+)小	(-)中心域 ~(+)小, 少	(-)中心域 ~(+)小, 少
質	染色性	ほぼ正常	胞体顆粒濃赤 (中性赤好染)	ほぼ正常	外縁部ヤース ス緑染 粗大
変性変 出現率	25.0%	37.5%	40.3%	55.0%	
変化の程度 (添加物による差)	A=B	A<B	A<B	A≤B	A<B
備 考	肝自己抗体価 (血中) (-)	肝自己抗体(血中) 1:4	融日6回腹腔内, 抗卵白アルブミン 抗体(血中) 1:16	融日6回腹腔内, 同種抗肝抗体 (血中) 1:8	肝自己体(-)

註 1) 上記所見はA物質添加による変性変化であ

2) B: は抗体価1:64のモルモット肝家兎血清

示す異種の抗モルモット肝家兔血清を作用させた場合は一層顕著であつた。

またビールス感染により肝自己抗体を血中に認める時期のマウス肝細胞における、これら作用物質に対する反応性の変化は、10%卵白アルブミン液 0.1 ml を隔日 6 回マウス腹腔内に接種し、1 週間経過後の血中の抗卵白アルブミン抗体価が 1:16 を示したマウス肝細胞、及び 10% 健常マウス肝 T. 液抽出抗原 0.1 ml を隔日 6 回腹腔内に接種して 4 日後、血中の同種肝抗体価が 1:8 を示したマウス肝細胞に、それぞれ上記と同じ作用物質を作用させた場合の反応性と甚だ酷似しており、従つて感作物質の差異による肝実質細胞の反応性の質的差異は認められなかつた。

56°C、30 分間非働化した抗モルモット肝家兔血清を肝細胞に作用させた場合の変化は若干弱い、4 時間作用すると中心域の膨化、Mitochondria の粗大化、中性赤好染性の変化が認められた。

なお当該エ・ビールス 10<sup>10</sup> 稀釈液 0.1 ml 接種後、17 病日、及び 28 病日の感染マウスの腸間膜リンパ節を前記同様にすり潰して、肝細胞におけると同様の条件で各種抗原添加による変化を位相差鏡検法で観察すると、37°C、2~4 時間で、主として淋巴球は顆粒形質（核周辺部）が膨化し、また単球も全体に膨化伸展するが、Blister 形成及び空胞変性は殆んど認めなかつた。また 17 病日と 28 病日の淋巴節細胞の間には反応性に有意の差は認められなかつた。

ビールス感染過程における感染後期で、いわゆる肝自己抗体を血中に認める時期の肝実質細胞は、Hematoxylin-Eosin 染色及び無処置の位相差鏡では、28 病日の肝細胞においてやや Mitochondria の粗大膨化がみられるほかは、一見殆んど正常細胞と変るところはないが、これに抗原（自己感作抗原）または抗体価の比較的高い異種抗肝血清を作用させると、いずれの場合でも、超生体環境下の位相差鏡検において、Mitochondria、中心域の顆粒形質にかなりの変性所見を認め、しかもその変性度は、抗原を用いた場合よりも、抗体価の高い異種抗肝血清（抗体価 1:64 の抗モルモット肝家兔血清）を添加した場合の方がより顕著なようであつた。

2. 同種抗肝血清（自己抗体）の生物学的意義について

1) 同種抗肝血清（肝自己抗体）の細胞に及ぼす反応性。

同種抗肝血清、いわゆる肝自己抗体の正常肝細胞に及ぼす直接作用を検討するため、エ・ビールス感染後、肝自己抗体を証明する 28 病日の抗血清（抗体価 1:4）、及び正常マウス肝乳剤による感作法で生成した同種抗肝血清（正常マウス血清で稀釈して抗体価 1:4 とする）を 56°C、30 分間非働化し、前記の方法で健常マウス肝細胞（もしくは、健常モルモット肝細胞）の T. 液浮遊液に添加し、肝細胞に及ぼす変化を 37°C、3~4 時間、位相差鏡検法で観察した。なお対照として、モルモット肝乳剤で家兔を長期感作して得た抗モルモット肝家兔血清（抗体価 1:64）、および正常マウス血清をそれぞれ同様に添加して比較検討した。

表 2 に示すように、同種肝乳剤による感作で得られた同種抗肝抗体を作用させた例では、肝実質細胞原形質外縁部の Mitochondria の一部膨大を認めるのみで、ビールス感染によるものも、よらないものも、正常同種血清を作用した対照例と殆んど有意の差異を認めなかつたが、これにさらに 0.05M アンモニア水 1~2 滴を加えると同種抗肝血清作用例は、正常対照に比して極めて速かに（30分~1時間）、核膜、核小体も不鮮明になり、胞形質の外縁部に膨化が著しく、またその部の Mitochondria も膨大腫脹して、外縁部に小 Blister の散在を認めるようになり、1 時間以上経過後は T. 液に置換しても正常に復さないが、正常対照例では遅れて 1 時間以後に、核膜の不鮮明化、Mitochondria の粗大膨化、外縁部胞形質の軽度の膨化をみるのみで、T. 液にかえずと比較的 normally 復し、可逆的である。

表 3 に示すように、健常マウス肝細胞に抗モルモット肝家兔血清を作用させた場合、抗体価の低い場合（稀釈して同種抗肝抗体価と同値 1:4 にする）、同種抗肝抗体、または同種正常血清添加の対照例と酷似して殆んど変化を認めないのに反し、抗体価の高い（1:64 は場合）甚だ早期（30分~1時間）から、抗細胞の中心域に球状膨化を来し、すべて Mitochondria も粗大膨化し、胞体膨化のため核膜も不鮮明となり、4 時間後には、浮遊液よりもやや安折率の強い均質の中性赤不染の小水泡の形成を時に認めることがある。

なお、分離観察しやすい健常モルモット肝細胞 T. 液浮遊液にビールス感染後 28 病日目の肝自己抗体（抗体価 1:4）を有する異種抗肝血清、及び健常マウス肝乳剤による感作で産生された同種抗肝血清（稀釈して抗体価を 1:4）とすを前述と同一条件

表2 同種抗肝血清の健常マウス(又はモルモット)肝細胞に対する作用(位相差鏡検法による)

被 検 物		健常マウス(もしくはモルモット)肝実質細胞					
変 化	作用物	エ. ビール + 自己感染に基づく 28病日同種抗体 (1:4) → 0.05M + NH <sub>4</sub> OH 1 gtt		同種肝感作による同種 + 抗肝抗体 (稀釈後 1:4) → 0.05M + NH <sub>4</sub> OH 1 gtt		正常マウス + 血清 → 0.05M + NH <sub>4</sub> OH 1 gtt	
	観 察 条 件	37°C 3~4時間 Tyrode 氏液 1時間		37°C 3~4時間 Tyrode 氏液 1時間		37°C 3~4時間 Tyrode 氏液 1時間	
核	核 膜	鮮 明	不 鮮 明	鮮 明	不 鮮 明	鮮 明	やや不鮮明
	核 形 質	正 常	やや膨化	正 常	やや膨化	正 常	ほぼ正常
	核 小 体	正 常	やや不鮮明 なるも(+)	正 常	不鮮明なる も (+)	正 常	ほぼ正常
原 形 質	膨 化	(-)	外縁部 (+)	(-)	全域 (+)~(++)	(-)	外縁部 (±)~(+)
	糸粒体の粗大膨化	ほぼ(-)	外縁部 (+)~(++)	外縁部一部 (+)	外縁部 (+)~(++)	(-)	外縁部 (±)~(+)
	Storage Granula	ほぼ(-)	大小不同 (+)	ほぼ正常	大小不同 (+)	正 常	正 常
	Bliester 形 成	(-)	外縁部 (+)	(-)	外縁部 (+)	(-)	(-)
染 色 性	ほぼ正常	顆粒形質 中性赤好染	ほぼ正常	顆粒形質 中性赤好染	正 常	顆粒形質 やや中性赤好染	
変 化 出 現 率	(-)	77.8%	7.5%	70.0%	(-)	62.5%	
備 考		Tyrode 氏液 置換にて不 可逆性		Tyrode 氏 液置換にて 不可逆性		Tyrode 氏 液置換にて 可逆性	

表3 異種抗肝血清の健常マウス(又はモルモット)肝細胞による作用(位相差鏡検法による)

被 検 物		健常マウス(又はモルモット)肝実質細胞		
変 化	作用物	抗モルモット肝 家兔血清(任値) + (正常家兔血清で稀釈し 1:4とす)	抗モルモット肝 + 家兔血清 (1:64)	正常同種 血 清
	観 察 条 件	37°C, Tyrode 氏液 3~4時間		同 左
核	核 膜	ほ ぼ 鮮 明	やや不鮮明	鮮 明
	核 形 質	ほ ぼ 正 常	ほ ぼ 正 常	正 常
	核 小 体	正 常	正 常	正 常
原 形 質	膨 化	(-)	(±)~(+) 中心域	(-)
	糸粒体の粗大膨化	(+)	(+)粗大	(-)
	Storage Granula	ほぼ正常	ほぼ正常	正 常
	Bliester 形 成	(-)	中心域に時に小水泡	(-)
染 色 性	周縁部ヤーマス 緑粗大顆粒状染	周縁部胞体顆粒 中性時にやや好染	正 常	
変 化 出 現 率	55.0%	85.0%		
備 考				

の超生体環境で作用せしめた場合も殆んど変化を認めず、正常対照との差異を認めなかつた。

2) 同種抗体 (肝自己抗体) の感染に及ぼす影響。

肝自己抗体の感染に及ぼす影響を明らかにするため、健常マウス肝の10%生理食塩水抽出抗原 0.1 ml 宛を隔日 8 回腹腔内に接種した感作マウス群と対照として、それぞれ10%卵白アルブミン液、及び生理食塩水を同様接種した各感作マウス群に、最終接種後 1 週間にエ・ビールス段階稀釈液 0.1 ml を各 5 匹のマウス腹腔内に接種し、10日間の斃死状態観察により各感染作群の50%致死量 (LD<sub>50</sub>) を観定すると表 4 のように、同種肝感作群 (同種抗肝抗体価 14~1:8) と卵白アルブミン感作群 (抗卵白アルブミン抗体価 1:16, 同種抗肝抗体価 (-)) との間には有意の差はみられないが、生理食塩水のみ接種の対照群と比べると、前二者は明らかにビールス感染に対して不利であり、教室和泉<sup>13)</sup>、太田<sup>14)</sup> 知見と全く一致した。

なお、前記 3 感作群において、最終感作後 1 週間にエ・ビールス 10<sup>10</sup> 稀釈乳剤 0.1 ml を各感作マウスの腹腔内に接種し、抗ビールス補体結合抗体、同種抗肝抗体、及び卵白アルブミン抗体の血中推移を観察すると表 4 のように、同種肝感作群、及び卵白アルブミン感作群にあつては、既存の同種抗肝抗体、及び抗卵白アルブミン抗体は次第に減少の傾向

を示し、抗ビールス補体結合抗体 (エ・ビールス感染マウス肝 T. 液抽出抗原に対応する抗体、以下同じ) は両者とも生理食塩水接種対群に比べて比較的早期に出現し、当該抗体価は同種肝感作群において若干高いようではあるが、両者間には有意の本質的差異は認められない。

抗体が産生されている感作群では対照群に比べてビールス感染に不利の状態であり、いずれも 8~10 日で斃死するが、その過程において、既存の抗体においては既往性反応様の変化はみられないが、抗ビールス補体結合抗体の産生は対照群に比し速かに認められ、ビールス感染に基因する抗体産生能がこれら感作群で活発であつた。

3) 同種抗肝抗体 (肝自己抗体) による被働性感作、及びそのビールス感染に及ぼす影響。

10%健常マウス肝乳剤を感作原としてマウス腹腔内に前記のように接種してえられた同種抗肝血清 (正常マウス血清で稀釈して抗体価を 1:4 とす)、及びエ・ビールス 10<sup>10</sup> 稀釈液 0.1 ml 腹腔内接種後 28 病日の同種抗肝抗体の存在する抗血清 (抗体価 1:4) 各 0.1 ml 宛、連日 2 回健常マウスの腹腔内に接種し、被働感作した群をそれぞれ 2 群に分ち、その 1 群にエ・ビールス 10<sup>10</sup> 稀釈乳剤 0.1 ml (LD<sub>50</sub>=10<sup>-6.5</sup>) を 1 回腹腔内に接種して、それぞれについて抗体の推移、及び肝組織変化を観察した。な

表 4 各種感作の感染に及ぼす影響、並びに抗体の推移

	50%致死量 (エ・ビールス)	エ・ビールス 10 <sup>10</sup> 稀釈液 0.1 ml 腹腔内接種による各種抗体の推移					
		抗体	病日	前	2 日	5	7
同種肝感作群	10 <sup>-9.9</sup>	抗ビールス補体結合抗体	(-)	1:16 1:8	1:8	1:8	1:8 1:4
		同種抗肝抗体	1:8 1:4 1:4	1:8 1:4	1:4	1:4	1:4 1:2
卵白アルブミン感作群	10 <sup>-9.5</sup>	抗ビールス補体結合抗体 <sup>1)</sup>	(-)	1:4	1:2	1:2	
		抗卵白アルブミン抗体 <sup>1)</sup>	1:16	1:4	1:4	1:1 (-)	
		同種抗肝抗体	1:1 (-)	1:2	(-)	1:2 (-)	
生理食塩水接種対照群	10 <sup>-7.8</sup>	抗ビールス補体結合抗体	(-)	(-) (-)	1:4 1:2	1:4	
		同種抗肝抗体	(-) (-)	(-)	(-)	(-)	

お対照として同種抗肝抗体(-)の正常マウス血清を前記同様に接種し、同じくエ・ビールス  $10^{10}$  稀釈乳剤 0.1 ml を接種し、また生理食塩水 0.1 ml 宛 2 回接種し、同時に前記同量のエ・ビールスを腹腔内に接種した群とも比較検討した。

健常マウス肝乳剤感作による同種抗肝血清接種群、及びエ・ビールス感染28病日の同種抗肝抗体(肝自己抗体)の存在する抗血清接種群、さらに対照としての正常マウス血清接種群の3群の被働性感作後の変化を約10日にわたって観察すると、いずれの群においても血中に同種抗肝抗体の出現等の血清学的変化は認め難く、また組織学的にも、いずれの場合も肝組織において殆んど認むべき変化を示さなかつた。ビールス感染28病日の肝自己抗体の腹腔内接種群においては6日目に星細胞(Kupffer氏細胞)の腫脹、小葉内えの細胞浸潤を認める例が、僅かにみられるが必発所見ではなく、また太田<sup>1)</sup>がウサギ肝乳剤でウサギを感作してえられた同種抗肝血清を耳静脈等より1回接種して8~12日後に認めた著明な肝細胞の変化、即ち小葉中間帯類洞の拡張、Fibrinの析出、好酸球及び形質細胞浸潤等のアレルギー性炎壊死果等の変化は、抗体価の甚だ低い(1:4)当該抗血清では認められなかつた。しかし脾組織像では、同種抗肝抗体による被働性感作群において、対照と比べて早期(6日目頃)より濾胞中心部、及び髓索細網細胞の腫脹、増殖、及び脾洞内皮の腫脹と時に脾洞内に遊離貪喰細胞の出現等の過貪喰性反応を認め、後期には好中球、リンパ球の滲出、髓索動脈周囲の単球、形質細胞の増生等の過形成反応もみられ、被働性感作群では肝組織よりもむしろ脾組織の変化

の方が遙かに優勢で、同種抗肝血清中の反応惹起物質の存在をうかがわす所見がみられた。さらに、各被働性感作群にエ・ビールス少量( $10^{10}$ 稀釈剤0.1 ml)を腹腔内に接種して、ビールス感染に及ぼす影響を観察すると表5、6のとおりで対照群と異りエ・ビールス感染により極く初期2日目には既に過半の例において漿液性炎と共に著しい星細胞反応、小葉内単球浸潤、及び小葉中心帯附近の実質細胞小壊死果を認め、この変化に経日的に、漸次強くなり、6日目には壊死果は融合して広範となり、変性も高度で、空胞変性、及び Mallory 体の出現を示すと共に過半例において8日目に小葉中間帯より辺縁部に線維素析出、類洞拡張、好酸球及び形質細胞の浸潤を伴う好酸性凝固壊死等のアレルギー性炎壊死果を認める。従つて同種抗肝血清は抗体価が低値であっても Cytotoxin 様作用を有し、この同種抗肝血清による潜在性肝障害はビールス感染に不利に作用することが明確である。また血清学的には、エ・ビールスを負荷した場合の同種抗肝血清(感染性および非感染性とも)被働性感作群と対照との間には殆んど有意の差異はなく、いずれの場合も同種抗肝抗体の血中出現は認められなかつたが、抗ビールス補体結合抗体は初期(2日目)から低値ながら血中出现し、以後さして変動もなく低値の持続がみられる。(表6)

なお、ビールス感染後期の同種抗体(肝自己抗体)被働性感作群と同種肝抗原の感作によつて生成した同種抗肝抗体被働性感作群とのエ・ビールス感染に対する態度は、前者の場合、2日目頃に小葉内細胞浸潤し、単球、好中球)及び星細胞の腫脹増殖

表5 同種抗肝血清被働性感作の感染(エ・ビールス)に及ぼす影響 (1)

肝組織変化

組織像 病日	実質細胞変性	実質細胞壊死	血管系変化	漿液性炎	星細胞反応	小葉内 細胞浸潤
2日	V=L=C	L>V>C	V=L>C	V=L=C	V>L=C	V>L>C
4	V>L>C	V=L>C	L>V>C	V>L>C	V>L>C	V>L>C
6	V=L=C	V>L>C	L>V>C	V>L>C	V=L>C	V=L>C
8	V=L<C	V*1)≥L*1) > C	V=L>C	V=L=C	V=L>C	V>L=C
10	V=L>C	V=L*1) > C*2)	V=L=C	V=L>C	V=L>C	V=L=C

註 V: エ・ビールス感染後28病日の同種抗肝血清(1:4)を0.1ml宛2回腹腔内接種後  
 L: 健常マウス肝乳剤による感作後同種抗肝血清(正常マウス血清で1:4抗体価に稀釈)を腹腔内に接種す。  
 C: 正常マウス血清

\*1): 広範なアレルギー性壊死を認める

\*2): 小壊死果(一部肉芽腫様に分画化)

表6 同種抗肝血清被動性感作の感染に対する影響 (2)

各種抗体推移と肝組織変化

被動感 作抗血 清	病日		2	4	6	8	10
	抗体		病日				
V.	抗ビールス 補体結合抗 体(平均)		1 : 4	1 : 4	1 : 4	1 : 2.5	1 : 2.5
	同種抗肝抗 体(平均)		1 : 1	(-)	(-)	(-)	(-)
L.	抗ビールス 補体結合抗 体		1 : 6	1 : 3	1 : 4	1 : 3	1 : 4
	同種抗肝抗 体		1 : 0.5	1 : 1	(-)	(-)	(-)
C.	抗ビールス 補体結合抗 体		1 : 3	1 : 4	1 : 3	1 : 4	1 : 4
	同種抗肝抗 体		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
肝 組 織 変 化	実質細胞 変性	卅			● ○		
		卅		●●○○	● ○ ×	●○××××	×
		+	●●○ ×	●○○××	●○○×××	●●○○○×	●●○○○×××
		±	○ ×	×			● ○
肝 組 織 変 化	細胞壊 死	卅			●●○○	●●○○	
		卅	● ○	●●○○	● ○○	●○××××	●○○
		+	● ○○××	●○○ ××	×××××	○ ×	●●○○○×××
		±	●	×			×
肝 組 織 変 化	漿液滲 出	卅		●	●●○○	●	
		卅		●	●●○○○××	●○○○××××	●○○○○××××
		+	●○○××	●●○○○××	●○××××	●○○○○××××	○ ××
		±	● ××	○ ××	○ ×	●	●○××
肝 組 織 変 化	星細胞反 応	卅			●		● ○
		卅	●●	●●○○	●○○○	●●○○○××	●●○○○××
		+	●○○××	●○○×××	●○××××	● ○○××	○××
		±	○○××	×			
肝 組 織 変 化	小葉内細胞浸 潤	卅			●●○○○	●	
		卅	●●○	●●○○	●●○○○	●●○××	○
		+	● ○	● ○○	● ○××	○○○××	●●○○○××
		±	○×××	×××	×		● ○ ×

註 ● : V. エ. ビールス感染28病日の同種抗肝血清被動感作例  
 ○ : L. 健常マウス肝抗原感作による同種抗肝血清被動感作例  
 × : C. 正常マウス血清被動性感作  
 なくいづれを上記接種後エ. ビールス10<sup>10</sup>稀釈 0.1ml 腹腔内に接種して経時的に観察す

が後者の場合に比べてやや著しい程度で、両者の間には、殆んど有意の差は認められなかつた。即ち抗体価の相似した両同種抗肝血清の肝組織に及ぼす影響はほぼ等しいものようである。

### 総括並びに考案

エ・ビールス腹腔内接種によつて惹起されるビールス性肝炎において、ビールス量が少い場合は発症をみないが、血清学的には初期にはビールス感染に基因する諸抗体の産生、さらに後期には自己肝組織に対応する、いわゆる肝自己抗体を証明し、肝組織像では増殖炎形式を示し、実質細胞の変性壊単死は結節化する hyperergic な感染アレルギーの組織変化を呈することは、既に第1編で明確にしたが、こうした感染後期の、いわゆる肝自己抗体を血中に証明する時期の一見正常にみられる肝実質細胞に同種抗原（自己感作抗体）、もしくは抗体価の高い異種抗肝血清を作用させ、超生体環境（T. 液浮遊、37°C、2～4時間）で、位相差鏡検で観察すると、遥らかに正常血清添加の対照例、即ち自然変性過程に比べて早期に Mitochondria の粗大膨化、中心域顆粒形質の球状膨化、時に顆粒形質の中性赤好染性及び Blister 形成に及ぶ変性所見を認める。

このことは感染28病日の肝細胞の同種肝抗原、及び抗モルモット肝家兎血清等の諸種作用物質に対する超生体環境下の変性度が、より感染時期の新しい17病日のそれを凌駕していること、及び同種肝抗原、または卵白アルブミン感作により明らかに血中抗体を証明しうるに至つた時期の、一般に Mitochondria が幾分の粗大膨化がみられるが、一見正常と判定される肝細胞に当該諸種抗原を作用させた場合、変化が上記と類似していることと考え併せると、ビールス性肝炎のため、ビールス自体もしくはその産生物により崩壊変調された自己肝組織による遷延感作が潜在的に肝実質細胞の反応性に大きな変化（易反応性）を与えていることは明らかとなつた。即ちビールス感染後期に肝細胞の壊死崩壊による生体の自己感作が全身生体反応の部分現象として細胞レベルにおいても自己臓器アレルギー現象を成立させていることが判明した。

換言すれば自己感作状態にある生体は第1編において既述した自己アレルギー（臓器アレルギー）を呈するほか、その一部分現象として肝細胞自体にも反応性の変化（易反応性）を招来したもので、超生体環境下での該当抗原の添加が潜在性に易反応性を

有する肝細胞に原発性の変性現象を招来することは、当該肝実質細胞自体を場とする抗原抗体反応の結果と解される。又 Waksman, B. H.<sup>16)</sup> も述べているように、概して自己アレルギーにおいては血中に抗体は証明されず、組織拘着性の抗体によつて、原発性に臓器組織に反応が惹起されるとしているが、ビールス感染後期の自己臓器アレルギーの時期の肝細胞の反応性等についての位相差鏡検による検討は、肝自己抗体（同種抗肝抗体）の血中出現と平行して反応性の亢進、細胞拘着性抗体の存在の可能性を推測せしめるもので、このことは自己アレルギー現象の複雑性を示すものであるが、ともかくも教室太田<sup>8)</sup>、谷野<sup>7)</sup> が Atox1 (アゾ色素) で標識しれ抗原、もしくは抗血清の家兎耳静脈内注射後の諸臓器組織への局在化を追求し肝組織への比較的集中、ことに星細胞だけでなく肝細胞胞体内へも侵入していることを証明していること、及び田辺<sup>14)</sup> の同種及び異種肝抗原感作時、及び ACE (Interenin) による既往性反応時の肝細胞の反応性についての位相差鏡検、及び電子顕微鏡による検討、さらに流行性肝炎における臨床例についての肝自己抗体血中陽性時の Biopsy 肝細胞にみられる反応性変化の指摘<sup>17)</sup> を肯定せしめる所見である。

なお感染28病日の肝細胞に高抗体価の異種抗肝血清（抗モルモット肝家兎血清）を作用させた場合、同種肝抗原添加を凌ぐ変性現象を呈するが、この変化は前記の自己感作時の肝細胞にみられる潜在性の易反応性によることと共に、正常細胞に対する作用からも明らかのように当該異種抗肝血清の Cytotoxin 様作用及び細胞内の共通抗原に対する抗原抗体反応の影響も除外出来ない。しかも同様に感染17病日と正常の肝細胞における当該抗血清による変化を28病日肝細胞におけるそれと対比検討すると、先に論じた感作肝細胞の潜在の易性反応性は、その細胞膨着性抗体の存在の推定や、細胞自体の抗原物質の変化も含めての Cytotoxin に対する抵抗性の変化、及び細胞自体のもつその他の複雑な諸因子によるものも考慮におかねばなるまいと考えられる。

感染による自己アレルギー時の肝細胞に同種肝抗原、または異種抗肝血清を超生体環境下で作用した場合にみられる位相差鏡検における変化は抗原抗体反応に負うところが大きい、これは Zollinger, H. U.<sup>18)</sup> 水平<sup>19)</sup> が位相差顕微鏡による系統的な細胞学的研究で指摘している諸種化学物質による変性像と本質的に差異はなく、ただ程度の差だけである。

なお抗原抗体反応時にやや特徴的とみられる胞形質の球状膨化、および T. 液よりはやや屈折率が大きい、中性赤不染性の均質小 Blister を主として中心域 (Golgi 野) に認める。Zollinger,<sup>18)</sup> 海野等<sup>20)</sup>、花岡<sup>21)</sup>、小延等<sup>22)</sup> は Golgi 野に由来する膨化空胞は種々の傷害因子によつて起る共通の変性現象とみなしているが、強いて差異を求めるとすれば上記諸家の指摘した空胞は屈折率の低い明るい膨化胞であるのに反して、著者の例では時にみられる Blister は小さく、概して抗血清、または抗原添加の浮遊液とさして屈折率の異なる、中性赤不染性であることのようにである。

ともあれ、大きな核、及び核小体と緻密な原形質構造を有し、全体に黒灰色の球形、短桿形の多くの Mitochondria とさらに多い明るく球状の化学的物論的作用に強い抵抗性を持つ特殊顆粒 (Storage granula) を有する肝細胞は、本来超生体環境下で諸種傷害因子に対する抵抗性は他細胞に比して強固であるにかかわらず、特異抗原、または抗体添加によつて、かなりの変性現象を呈することは自己感作状態の細胞の易反応性、抗原抗体反応の傷害作用の強さをうかがわせ、興味ある現象と考えられる。

ビールス感染経過による自己感作に基因した同種抗肝血清 (肝自己抗体) と同種肝感作によつて産生された同種抗肝血清を直接健常マウス肝実質細胞、または健常モルモット肝実質細胞に超生体環境下で作用させた場合の位相差鏡検所見では殆んど変化は認められないが、当該抗血清添加後、さらに 0.05 M アンモニア水を添加すると正常同種血清作用の対照例に比して著しい変性現象を認めることから明らかにビールス感染性、及び非感染性にかかわらず自己、もしくは同種肝組織抗原感作によつて産生された抗肝抗体は低値 (1:4) にもかかわらず対応する組織ないしその実質細胞にかなりの潜在性傷害を与え、易反応性とする事は確かであり、また、異種抗肝血清の場合でも低値の際は潜在的傷害に止まるが、高値の場合は顕著な傷害作用を示す。

以上超生体環境下の位相差鏡検における同種抗肝抗体 (肝自己抗体) を含む特異抗血清の正常肝細胞に対する作用は Cytotoxin 様作用として包括されるもので、この作用の大きさは抗体価とほぼ相関することからも、これらの変化は細胞中に存在する抗原に対する抗血清の特異的抗原抗体反応が主要な側面をなしており、しかも補体の存在は必ずしも必要でないことが推定される。このような所見はまた木

村<sup>23)</sup>等の組織培養法による培養組織細胞に対する各種抗血清の Cytotoxin 様作用についての検討の結果とも合致する。

このことはさらに同種抗肝抗体 (自己抗体) 等の生体内作用の考究により一層明確になった。即ち、ビールス感染性、又は非感染感作による同種抗肝血清 (抗体価 1:4) をマウス腹腔内へ被働性感作した場合、及び同種肝抗原、もしくは卵白アルブミンで長期感作してそれぞれの血中抗体価の上昇した感作群の場合、単なる Hematoxylin-Eosin 染色では肝の星細胞反応の亢進像と脾の一部過形成反応の他、注目すべき変化は認められなかつたが、これらにエ・ビールスの極少量 ( $10^{10}$  稀釈液 0.1 ml) を腹腔内に接種すると被働性感作群では正常同種血清による対照群に比して初期より漿液性炎、星細胞の腫脹増殖、小葉内細胞浸潤、一部実質細胞の小壊死巣の出現等の組織学的変化が著明で、また各種抗原長期感作群においては LD<sub>50</sub> 測定からも明らかなように、いずれもほぼ同様にビールス感染に対して不利な結果を招来しており、これら同様抗肝抗体 (肝自己抗体) は in vivo においても肝組織 (細胞) に対して、低抗体価にかかわらず広に意味でも Gytotoxin 様物質として、むしろ反応惹起物質として潜在的肝障害作用を示していることがうかがえる。この点、同種抗体抗 (肝自己抗体) の臓器特異性の検討<sup>4)8)24)25)</sup> や単なる随伴物質<sup>26)27)</sup> との関係、異種抗肝血清の被働性感作<sup>8)28)29)30)</sup> に関する検討が、その間の消息をある程度明らかにしている。

なおまた肝におけぬ病変の比較的局在性から、抗体の局在因子としての作用<sup>31)</sup> も無視しえないし、更にその障害性の有無は質的差異でなく単なる量的な差によるものであろうとする Smadel, J. E. 等<sup>32)</sup> の見解と同調しうる面も多いようである。

しかも、この潜在的肝障害作用は、感染に基因する抗ビールス補体結合体の産生能には、さして強い影響は与えていないようで、同種肝感作群、卵白アルブミン感作群、及び同種抗体の被働性感作群ともビールス感染により抗ビールス補体は極めて早期より血中に出現し、ほぼ斃死するまで持続するが、この間、当該抗体の大量産生、また感作群においては既往性反応を思わせるような同種抗肝抗体の血中増加、及び被働性感作群では感作抗体の血中出現は全く認められなかつた。この点第 1 編において著者が指摘したように、感染に直接基因する抗体の産生及び血中出現機序と自己感作 (臓器アレルギー) に基

因する抗体のそれとの間には明らかな差異がみられることは興味深い点である。また生物学的意義についても感染に基因して自己臓器アレルギー過程に産生される同種（自己）抗肝抗体と同種肝抗原感作によつて産生されるそれとの間には、全く本質的差異は認められず、しかも広義の Cytotoxin 様傷害作用は種属特異性よりも比較的臓器親和性の方が顕著なようであり、障害程度は抗体価に平行する。

なお最近 Popper, H.<sup>33)</sup> は硬変症に進行している肝疾患では自己免疫の占める役割を重視し、抗原と抗体との結合物をラット胆管に注入した実験で、抗体自体が Cytotoxin 様作用を呈するのではなく、むしろ抗原抗体反応産物が肝組織への障害作用を有することを述べており、この意味でも今後検討を要する問題である。

また超生体環境下で肝細胞に対する諸種抗原、または抗肝抗体添加による原発性変性現象は、被検細胞すべてに必発のものではなく、変化出現率からも明らかなように、個体差と共に、同 1 個体のほぼ同 1 部分から採取したものでも既述の変化を明らかに呈するものとしからざる多数のものと共存することは、反応時の物理化学的要因もさることながら、同 1 個体の 1 定臓器で、しかも同一過程であつても細胞レベルの反応性の変化の程度等に差異がみられることは肝の組織機能の大きい代償性と関連し肝の病態生理解明上注目すべき点である。

## 結 論

感染アレルギー過程における臓器細胞の反応性検討し、次の結果がえられた。

1) エ・ビールス少量接種による不顕性感染のビールス性肝炎後期に同種（自己）抗肝抗体が血中に

みられる時期における人肝実質細胞は、超生体環境下での位相鏡検所見により、明らかにその反応性的変化、易反応性を認めた。これは感染による自己臓器アレルギー現象の細胞レベルにおける成立をうかがわすものである。

2) 感染後期の自己臓器アレルギー過程における肝実質細胞の反応性的変化は、超生体環境下の諸種抗原に対する態度より、この時期の全身感作現象の 1 部分現象としての易反応性を明確に示し、細胞拘着性抗体の存在を否定しえない事実を示唆した。

3) 同種（自己）抗肝抗体の生物学的意義を超生体環境下の正常肝細胞に対する直接作用、被動性感作、及び同種肝感作による実験の範囲内での検討からは、いずれの場合も肝細胞（組織）に対して不利に作用し、低抗体価抗体も病変の局在因子の 1 つとして主として肝細胞に Cytotoxin 様反応として潜在的障害を与えた。しかも抗体価が高値のほどその障害作用は著しい。

4) 同種（自己）抗肝抗体の生物学的意義は、ビールス感染による自己臓器アレルギー過程で産生されたものと、同種肝抗原感作により産生されたものとの間に本質的差異は認められなかつた。

5) 超生体環境下での感作肝細胞に対する抗原添加時と正常肝細胞に対する同種抗肝抗体添加時の変性現象は、後者では抗血清の Cytotoxin 様作用による潜在的障害過程が 1 部認められたが、いずれも抗原抗体の応に基因することが大きいと考えられ、しかもそ隣さい補体の存在は必ずしも必要でなかつた。

終に臨み御懇切なる御指導と御校閲を賜つた恩師小坂教授、並びに長島助教授に深甚な謝意を捧げます

## 文

- 1) Gajdusek, D. C.: Arch. Int. Med., 101, 9, 1958.
- 2) Mackay, J. R.: Arch. Int. Med., 101, 30, 1958.
- 3) 氏家睦夫: 岡山医学会誌, 71, 6611, 1959.
- 4) 長島秀夫: 日伝会誌, 34, 757, 1960.
- 5) 山本祐夫: 日伝会誌, 34, 744, 1960.
- 6) 谷野光弘: 岡山医学会誌, 71, 6353, 1959.
- 7) 谷野光弘: 岡山医学会誌, 71, 6361, 1959.
- 8) 太田康幸: 岡山医学会誌, 71, 6645, 1959.
- 9) Coons, A. H.: International Review of Cyto-

## 献

- logy, 5, 1, 1956.
- 10) 辻野一秋: 大阪市大医誌, 7(10), 123, 1958.
- 11) 畔柳武雄: 月本臨床, 20, 59, 1962.
- 12) 伝染病研究所学友会編: 細菌学実習提要, 丸善東京, 1955(昭和30年)
- 13) 和泉正昭: 岡山医学会誌, 71, 6415, 1959.
- 14) 田辺 功: アレルギー, 10, 391, 1961.
- 15) Forkner, C.: J. exp. med. 52, 279, 1930.
- 16) Waksman, B. H.: Internat. Arch. Allergy, 14, 1, 1959.
- 17) 田辺 功: アレルギー, 10, 400, 1961.

- 18) Zollinger, H. U.: *Am. J. path.*, **24**, 545, 545, 569, 797, 1039, 1948.
- 19) 水平敏知: 位相差顕微鏡法とその応用, 医学書院, 1952.
- 20) 海野源太郎, 武田 進: 癌, **43**, 181, 1952.
- 21) 花岡正男: 日血会誌, **19**, 341, 1956.
- 22) 小延知暉: 日血会誌, **21**, 767, 1958.
- 23) 木村 廉: 組織培養, 共立出版, 1955.
- 24) Beebe, S. P.: *J. exp. med.*, **7**, 150, 1911.
- 25) 和泉正昭: 岡山医学会誌, **71**, 6407, 1959.
- 26) Vorlaender, K. O.: *Klin. Wschr.*, **31**, 748, 1953.
- 27) 鈴木忠彦: 血液討議会報告, **7**, 99, 1954.
- 28) Beebe, S. P.: *I. exp. med.*, **7**, 773, 1911.
- 29) 馬杉復三: 腎炎その他の研究, 寧楽書房, 1948.
- 30) Meyer-Krahmer, H. G.: *Z. exp. Med.*, **116**, 393, 1950.
- 31) Hoff, F.: 日内会誌, **48**, 493, 第56回日本内科学会講演会特別講演, (1959)
- 32) Smadel, J. E.: *J. exp. Med.*, **70**, 223, 1930.
- 33) Popper, H.: 肝臓, **3**, 78, 1961.

**Immunoserological Studies on Experimental Virus Hepatitis**  
**2nd Chap. An Immunoserological Study on Cell Reactibilities**  
**of Various Organs in Infection Allergy**

By

Tadakazu AISAKA

The First Department of the Internal Medicine  
 Okayama University Medical School  
 (Director: Prof. K. Kosaka)

Cell reactivities of various organs during the course of infectious allergy were investigated, and the following results were obtained:

1) When a small amount of Ectromelia virus inoculated to produce subclinical infection, changes in reactivities such as accelerated reaction of the parenchymal cells of viral hepatitis liver were observed by a phase-contrast microscope under supravital conditions when the auto-liver antibody appeared in the blood at the later stage of the infection. This suggested a phenomenon of auto-organ allergy in the cells produced by infection.

2) In view from the attitude towards various antigens, such changes in the reactivities of the parenchymal liver cells during the course of auto-organ allergy were considered to be a part of generalized sensitization at this stage. Therefore, the presence of cell fixed antibody cannot be denied.

3) For the purpose of investigating the biological meaning of the auto-liver antibody its direct influence on the normal parenchymal liver cells under a supravital condition, passive sensitization and homologous liver sensitization were studied. Then it was revealed in every experiment that the auto-liver antibody gave an unfavorable effect on the parenchymal liver cells. Even low titer antibody gave a latent damage as a localizing factor, showing a cyto-

toxin-like reaction. The higher the titer of the auto-liver antibody, the more severe damage of the liver observed.

4) There was no essential difference in biological value between two types of auto-liver antibody, the one produced in the process of auto-organ allergy by direct viral infection and the other produced by sensitization by means of homologous liver antigen.

5) Degenerative changes of parenchymal liver cells produced by either addition of antigen to sensitized liver cells or addition of auto-liver antibody to normal liver cells were mostly due to antigen-antibody reaction in which complement was not always needed. However, in the latter case some exhibited an evidence of latent damage due to cytotoxin-like mechanism.

---