原 著

内毒素血症と血液凝固・線溶系 —マウス系統と内毒素に対する感受性—

平田 陸正* 角田 伸子* 稲田 捷也* 吉田 昌男*

Endotoxemia and blood coagulation-fibrinolysis systems —Sensitivities of mouse strains to endotoxin—

Michimasa HIRATA*, Nobuko TSUNODA*, Katsuya INADA*
and Masao YOSHIDA*

key words: endotoxemia, thromboplastin, bone
marrow cells, FDP, DIC

A single dose of endotoxin caused an increase in cytotoxic damages of bone marrow cells, an increase in procoagulant activity (p-activity) of the cells, decrease in nucleated cell counts in marrow due to the migration into circulation, and an increase in serum FDP levels. The increase in cytotoxicity of bone marrow cells correlated well with the increase in p-activity of the cells. Most of the p-activity was found in the membrane fragments in the cells and p-activity was thought to be tissue thromboplastin.

Endotoxin induced an increase in p-activity in monocytes (6.9-fold) and granulocytes (2.9-fold).

The ddY mice were more responsive than C3H/He mice as to increase in cytotoxicity and also a decrease in nucleated cell counts in marrow. In contrast, none of these reactions were induced in C3H/HeJ mice. Endotoxin caused strain-dependent production of p-activity in mice. ddY mice and C3H/He mice responded to endotoxin with 7.0 and 2.9-fold increase of p-activity in whole nucleated bone marrow cells. In contrast, C3H/HeJ mice did not respond to endotoxin. Endotoxin also caused strain-dependent increase in serum FDP levels. ddY mice were more responsive than C3H/He mice, however, no increase in FDP was found in C3H/HeJ mice even by injection of 500 μ g of endotoxin. In C3H/HeJ mice, none of three endotoxin preparations which contained different amounts of pro-

* 岩手医科大学医学部細菌〔〒020 盛岡市内丸 19-1〕, Department of Bacteriology, School of Medicine, Iwate Medical University, Morioka, Iwate, Japan.

tein could increase in serum FDP levels.

In endotoxemia, bone marrow cells migrate to circulation, therefore, the cells with an enhanced p-activity would participate in the manifestation of DIC. This possibility is further supported from the findings that endotoxin induced strain-dependent responses as to all of the 4 parameters and that these parameters correlated well with each other.

はじめに

内毒素性ショックや内毒素血症などにおける DIC 発症には、内毒素による内因性および外因性凝固系の活性化が関与していることがよく知られている¹⁾。とくに、外因性に関してはマクロファージ、顆粒球の産生する組織トロンボプラスチンの役割が注目されている^{2,3)}。

著者らは、内毒素投与により骨髓に顆粒球を中心とした細胞毒性反応が惹起されること、この骨髓細胞が凝固亢進活性 (Procoagulant 活性 = P 活性) を示しその本能が組織トロンボプラスチンであること、さらに、P 活性を獲得した骨髓細胞が末梢へ動員されることを認め報告してきた⁴⁻⁹⁾。

このことから、内毒素による DIC 発症にはこの骨髓細胞を介した外因性凝固系の活性化が重要な役割をもっているものと考えている (図 1)。

今回、骨髓細胞を中心として P 活性の細胞内の局在場所、性状、由来細胞の種類などを明らかにすることを目的とした。さらに、著者らの仮説を立証するための 1 つのアプローチとして、骨髓におけるこれら 3 つのパラメータに加えて血清 FDP 量も測定し、3 系統のマウス株を用いてこれらのパラメータについて内毒素に対する感受性を比較検討した。

I. 材料および方法

マウス : Randomly bred (ddY 静岡株) および inbred マウス (C3H/He, C3H/HeJ, 当教室で繁殖) いずれも 10~12 週齢, 体重 30~40 g のものを使用した。内毒素 (LPS) 標品 : S. typhimurium LT2 株からフェノール抽出し透

Fig. 1 Disseminated intravascular coagulation (DIC) in endotoxemia

析、濃縮後に 140,000×g 1 時間の超遠心をくり返し核酸を除いて精製したもの。E. coli O111 : B 4 (フェノール抽出した Westphal 型およびトリクロ酢酸抽出した Boivin 型, Difco 製)。プラズマ : マウスプラズマは既報⁶⁾の方法に準じ心臓穿刺によってえた。XII, VIII 因子欠乏ヒトプラズマは市販 (Dade 社) のものを使用した。標準トロンボプラスチン : ウサギ脳トロンボプラスチン (シンプラスチン) およびマウス脳トロンボプラスチン (自家製, アセトン粉末³⁾) を用いた。骨髓細胞の調整 : 既報^{4,7)}の方法によって骨髓細胞を集め (全有核細胞画分), リンパ球分離試薬 (マウス用, Sodium metrizoate-Ficoll 混液, d=1.090 日本抗体研究所) によって顆粒球画分と単核球画分とに分け, 後者をさらにガラス附着性によりマクロファージとリンパ球とに分けた。内毒素による 4 反応 : いずれも既報^{4-6,8)}の方法に準じた。骨髓の細胞毒性反応は骨髓細胞浮遊液を用いてトリバンプ

Table 1 Sedimentation of the procoagulant activity

	Disrupted*	Thromboplastin units**				Total
		400×g	14,500×g	40,000×g	40,000×g sup	
Normal cells	1287	12	241	0	185	441
Post-LPS-cells***	4204	720	1171	1	635	2527

* Bone marrow cells (unfractionated) of 10 mice wice pooled and disrupted in 0.34 M-sucrose for 2 min, then sedimented successively at the above gravities, each sediment resuspended in predetermined volume was tested for procoagulant activity

** Procoagulant actiuty is expressed in units of standrd thromboplastin per 10⁷ cells or cell fractions.

*** Post-LPS-cells were collected 4 hours afrer i. v. injection of 100 μg of S. typhimurium endotoxin.

ルー被染色率で表現した。骨髓内有核細胞数は1本の大腿骨当りの有核細胞の絶対数で表現した。骨髓細胞の Procoagulant (P) 活性は、マウスプラスマに検体（細胞浮遊液または画分）を加えて凝固時間（PTT を応用）を測定し、この値と標準トロンボプラスチン単位で表現した。血清 FDP 量はラテックス凝集反応⁸⁾によって測定した。統計処理：2つの実験群間の有意差検定はt-検定により行なった。なお、図および表には平均±S.E で表現してある。

II. 結 果

1. P 活性の細胞内局在

1群10頭の ddY マウスに 100 μg の内毒素を i. v 投与し4時間後に骨髓細胞 (post-LPS-cell) を採取しプールした。これを0.34 M Sucrose で破壊し 400 g, 10分遠心し上清を 14,500 gで遠心, さらに上清を 40,000 g で遠心した。えられたそれぞれの画分についてP活性を調べ, トロンボプラスチン単位で表現した (表1)。なお, 対照マウスからえた骨髓細胞 (normal-cell) についても同様に操作した。normal-cell, post-LPS-cell とともに細胞膜画分を含む 14,500 g Sediment に P 活性が集中した。内毒素投与により P 活性は破壊液で 3.3 倍 (4204/1287) に, 14,500 g Sediment で 4.9 倍 (1171/241) に亢進した。

2. P 活性の本態

Fig. 2 Parallelism between regression line of Post-LPS-cells and mouse brain thromboplastin (MBT)

骨髓細胞の音波破壊液を用いた実験で, P 活性の本態は組織トロンボプラスチンであることをすでに報告している^{4,6)}。ここでは, 上記1でえられた 14,500 g Sediment を用いてこのことをさらに検討した。

1) 用量反応 (回帰) 直線の平行性検定

normal-cell, post-LPS-cell の音波壊液およびこれらからえた 14,500 g Sediment をそれぞれ倍数希釈してマウスプラスマに加え, 凝固時間を測定し回帰直線を作成した。標準品としてマウス脳トロンボプラスチン (MBT) を用いて同様に操作した (図2)。音波破壊液 (a), 14,500 g Sediment (b) いずれもプラスマに加える濃度 (細胞数) に依存して P 活性が高くなり (凝固時間の短縮), 内毒素投与群 (post-LPS-cell) で P 活性が高かった。また, post-LPS-cell の回帰直線は音波破壊液でえたもの (傾き

Table 2 Activation of extrinsic pathway by 14,500×g sediment

No. of cells ×10 ⁷ /ml	Normal mouse plasma		XII-deficient human plasma		VIII-deficient human plasma	
	Normal-cells	Post-LPS-cells	Normal-cells	Post-LPS-cells	Normal-cells	Post-LPS-cells
0	101.7	± 2.0	336.5		489.3	
1.25	104.7	103.2	—	—	—	—
2.5	98.3	97.2	311.7	277.7	—	—
5	97.7	82.2	257.8	204.1	445.7	263.3
10	91.2	66.3	164.6	127.2	174.8	130.5

Bone marrow cells from 10 mice were pooled and 14,500×g sediment was prepared.

Post-LPS-cells were collected 4 hours after i. v. injection of 100 µg of *S. typhimurium* endotoxin.

Table 3 Procoagulant activity of cell populations of mouse bone marrow after endotoxin injection

Cell populations	Thromboplastin units/10 ⁶ intact cells		
	Normal-cells	Post-LPS-cells*	Index
Whole nucleated cells	113 ± 25	785 ± 62	7.0
Whole mononuclear cells**	125 ± 57	483 ± 130	3.9
Granulocytes	127 ± 44	367 ± 84	2.9
Adherent cells***	66 ± 15	458 ± 60	6.9
Non-adherent cells***	65 ± 9	98 ± 11	1.5

* Collected 4 hours after i. v. injection of 100 µg of *E. coli* endotoxin.

** Isolated by centrifugation over Sodium-metrizoate-Ficoll (d=1.090) at 22°C for 20 min at the interface.

*** Isolated by incubation of mononuclear cells in RPMI medium for 1 hour in 16 mm-diameter plastic tissue culture plates at 37°C and 5 % CO₂.

−0.2462), 14,500 g Sediment でえたもの (傾き −0.2164) いずれも MBT の回帰直線 (傾き −0.2607) と平行した。

2) 凝固因子欠乏プラズマへの影響

14,500 g Sediment を倍数希釈してXII, VIII 因子欠乏プラズマに加え P 活性を調べた。表 2 に表すように, XII 因子欠乏, VIII 因子欠乏いずれのプラズマに対しても加える濃度に依存して凝固時間が短縮し P 活性が認められた。しかも, post-LPS-cell でより凝固時間の短縮が著明で, P 活性亢進が示された。すなわち, 内毒素投与によってこの画分の外因性凝固系の活性化能が亢進した。なお, VII 因子欠乏プラズマに対しては, normal-cell 由来の 14,500 g Sediment で凝固時間を短縮したが, これは post-LPS-cell とで差がなかった。すなわち, 内因性の活性化

は内毒素投与で影響されなかった。

3. P 活性の由来細胞

ddY マウスに 100 µg の内毒素を i. v 投与し 4 時間後に得た骨髓細胞をさらに分画し P 活性を比較した (表 3)。P 活性は 10⁶ 個の細胞当りのトロンボプラスチン単位で表現し, かつ, 内毒素投与によって対照に比べ何倍に増加するかを index で表わした。内毒素投与により P 活性は全有核細胞画分で 7 倍に亢進した。マクロファージおよび顆粒球画分ではそれぞれ 6.9 倍, 2.9 倍に P 活性が亢進したがリンパ球画分ではわずか 1.5 倍のみの亢進であった。

4. 内毒素に対する感受性

以後の実験では ddY, C3H/He および C3H/HeJ の 3 系統マウスを用い 4 パラメータについて比較した。

Table 4 Procoagulant activity of bone marrow cells

Mouse strain	PTT (sec)		Index
	Normal-cells	Post-LPS-cells	
C3H/He	206.1 $\pm$ 10.3	150.2 $\pm$ 11.5*	2.9
C3H/HeJ	225.2 $\pm$ 7.8	231.4 $\pm$ 3.7	0.9

Post-LPS-cells were collected 18 hours after i. p. injection of 100 μ g of *S. typhimurium* endotoxin. Sonic lysate of unfractionated whole nucleated cells (1×10^6) were used for clotting test. PTT of citrate-saline control was 198.3 $\pm$ 12.0 sec.

* $p < 0.02$ compared with normal-cells.

Table 5 Procoagulant activity of bone marrow cells : C3H/HeJ mice

	No. of mice	PTT (sec)	Thromboplastin units	Index
Normal-cells	7	79.6 $\pm$ 1.5	333 $\pm$ 33	1.0
Post-LPS-cells	7	73.2 $\pm$ 1.9	493 $\pm$ 50*	1.5

Post-LPS-cells were collected 4 hours after i. p. injection of 500 μ g of *S. typhimurium* LT 2 endotoxin.

Procoagulant activity is expressed as PTT or standard thromboplastin units per 2×10^6 intact nucleated cells. PTT of medium control was 114.2 $\pm$ 1.5 sec.

* $p < 0.05$ compared with normal-cells.

1) 骨髓の細胞毒素反応

図3の上段に示すように、100 μ gの内毒素 i. p 投与18時間後の細胞毒性反応は ddY マウスが最も強く (対照群 12.3 $\pm$ 3.9 %, 内毒素投与群 50.4 $\pm$ 3.9 %), ついで C3H/He マウスであった (同 11.7 $\pm$ 0.7 %, 30.4 $\pm$ 2.6 %). 一方, C3H/HeJ マウスではまったく細胞毒性反応は惹起されなかった.

2) 骨髓内有核細胞減少反応

図3の下段に示すように、ddY マウスが最も感受性が高く、100 μ gの内毒素により骨髓内有核細胞数は対照の約 1/2 に減少した. ついで C3H/He マウスであり、C3H/HeJ マウスではこの反応は認められなかった.

3) 骨髓細胞のP活性

100 μ gの内毒素投与後の骨髓細胞のP活性を 1×10^6 個の全有核細胞当りのトロンボプラスチン単位で比較した. ddY マウスではP活性が7.0倍と最も高かったが (表3), C3H/He マウスではこれについて2.9倍であった (表4). 一方, C3H/HeJ マウスでは0.9倍と対照と変わらずP活性は高まらなかった. C3H/HeJ マ

Two reactions were tested 18 hours after i.p. injection of endotoxin.
() No. of mice.
* $p < 0.001$ compared with control.

Fig. 3 Bone marrow reactions after endotoxin injection.

Table 6 Serum FDP levels after endotoxin injection

Mouse strain	No. of mice	Endotoxin* (μ g)	FDP (μ g/ml) Mean $\pm$ S.E (range)
ddY	6	0	<2.5
	7	100	21.4 $\pm$ 109 (2.5-80)
C3H/He	5	0	$\leq$ 2.5
	6	100	12.5 $\pm$ 5.7 (2.5-40)
C3H/HeJ	7	0	<2.5
	8	500	<2.5

FDP levels were estimated 18 to 24 hours after i. p. injection of *S. typhimurium* endotoxin.

* Contained 1.4 % of protein.

Table 7 Serum FDP levels after endotoxin injection
: C3H/HeJ mice

Endotoxin	Type	Protein content (%)	Dose (μ g)	No. of mice	FDP (μ g/ml)
E. coli O111 : B4 (Difco)	—	—	0	13	<2.5
	Boivin	10.2	500	6	<2.5
	Westphal	2.8	500	6	<2.5
S. typhimurium LT2	Westphal	1.4	500	8	<2.5

FDP levels were estimated 18 hours after i. p. injection of endotoxin.

ウスでは表5に示すように、内毒素を500 μ gに増量して投与し、かつ、プラスマに加える細胞数を2倍にしても(2×10^6 個)P活性は対照のわずか1.5倍に増加したのみであった。なお、この実験では同時に脾臓の単核球画分(マクロファージ、リンパ球を含む)についてP活性を調べたが、骨髓細胞同様にわずか1.4倍にしか増加しなかった。

4) 血清 FDP 量

血清 FDP 量においても3系統マウスの内毒素に対する感受性が異なり、100 μ gの内毒素投与でddYマウスでは21.4 $\pm$ 10.9, C3H/Heマウスで12.5 $\pm$ 5.7(μ g/ml)であったが、HeJマウスでは500 μ g投与でもまったく陰性であった(表6)。HeJマウスは致死性をはじめとして内毒素に対して低感受性であるが、内毒素の蛋白部分(lipid A associated protein=LAP)がHeJマウスのBリンパ球を活性化することが知られている⁹⁾。したがって、LAPを多量含んでいるBoivin型内毒素と、ほとんど含んでいないといわれているWestphal型内毒素標品

を用いてFDP量を調べた。結果は表7に示すように、3種いずれの内毒素標品も500 μ g投与でもFDPはまったく増加しなかった。

III. 考 察

内毒素性DIC発症には内毒素による内因性および外因性凝固系の活性化が関与している。内因性凝固系は内毒素のXI因子に対する直接作用、血管内皮障害、障害された白血球などを介して活性化される^{1,10)}。一方、外因性凝固系はマクロファージ、顆粒球の産生する組織トロンボプラスチンの作用を介して活性化される^{2,3)}。また、内毒素以外にも免疫複合体¹¹⁾、レクチン¹¹⁾、C5a¹²⁾など種々の物質の刺激によっても組織トロンボプラスチンが産生される。しかし、内毒素を含めこれらのほとんどがin vitroでの研究でありin vivoでの実験系は少い。

著者らは従来からin vivoの実験系により内毒素性DIC発症には細胞、とくに骨髓細胞を介した外因性凝固系の活性化が重要であることを強調してきた⁴⁻⁶⁾。すなわち、①全身の臓

器のなかで骨髄細胞が内毒素に対してきわめて感受性が高く、数 μg の内毒素により細胞毒性反応が惹起される。②内毒素投与後の骨髄細胞は凝固亢進活性 (Procoagulant=P 活性) を示し、本態が組織トロンボプラスチンである。③細胞毒性と P 活性を同一のマウスで同時に測定した系で両者がきわめてよく相関する。④P 活性を獲得した骨髄細胞が末梢へ動員される。これらのことがその根拠である。

今回の成績と上記の仮説との関連性について考察する。骨髄細胞の P 活性は主に 14, 500 g Sediment に存在すること、また、intact cell の P 活性が細胞を音波破壊したものより高いこと¹³⁾などから、P 活性は細胞膜画分に存在することが示された。内毒素により細胞毒性を受け膜に変化を来し、この結果 P 活性が高まるものとする。今回、この膜画分を用いた実験でも P 活性の本態は主に組織トロンボプラスチンであることが確認された。

骨髄細胞の P 活性はマクロファージ画分で最も高く、ついで顆粒球画分であった。骨髄は顆粒球に富む臓器であり、内毒素による細胞毒性 (細胞の壊死、破壊) は主に顆粒球に認められる。P 活性測定のための細胞は充分洗浄したものをを用いているが、この過程で顆粒球から活性物質が遊離することを経験している。また、内毒素投与後にえた骨髄細胞 (post-LPS-cell) を 37°C で短時間インキュベートすると P 活性が培養上清に一部遊離することも認めている。これらのことは、in vivo において、内毒素投与により骨髄顆粒球から P 活性が持続的に遊離していること示唆する。

近年、顆粒球の活性物質が再び注目され始め、このプロテアーゼが VII 因子を直接活性化し、敗血症患者でこの活性が高いことが報告された¹⁴⁾。また、顆粒球由来の塩基性蛋白が凝固系を活性化すること¹⁵⁾、トロンボキサン A_2 が血管障害や DIC 発症に関与することも報告されている^{16, 17)}。著者らも、骨髄細胞由来の塩基性蛋白がヘパリン中和能や可溶性フィブリンモノマーに対する不溶化作用などをもつことを認め報告している¹⁸⁾。したがって、骨髄細胞の P 活性として組織トロンボプラスチン以外の物質

にも注目すべきと考える。

3 系統のマウスを用いた実験により興味ある成績がえられ、4 つのパラメータすべてが strain dependent であった。すなわち、内毒素による骨髄の細胞毒性、骨髄細胞の P 活性、骨髄内有核細胞減少反応、血清 FDP いずれに対しても ddY マウスが最も感受性が高く、ついで C3H/He マウスであった。C3H/HeJ マウスではすべての反応が陰性であった。

以上、内毒素血症時に骨髄に膜変化を主とした細胞毒性が惹起され、これが原因となって P 活性が亢進し、さらに、この P 活性を獲得した骨髄細胞が末梢へ動員されることから、内毒素性 DIC 発症に骨髄細胞 (マクロファージ、顆粒球) が重要な働きをもっていることが強調される。このことは、4 つのパラメータそれぞれが 3 系統マウスできわめてよく相関することからも支持されるものとする。内毒素性 DIC 発症は宿主の内毒素に対する感受性によって支配されること、さらに、内毒素および内毒素の蛋白部分は C3H/HeJ マウスにおいて凝固・線溶系を活性化しえず DIC を惹起しないことも示唆された。

結 論

1. 内毒素投与により、骨髄での細胞毒性反応、骨髄細胞の凝固亢進活性 (P 活性)、骨髄内有核細胞減少反応および血清 FDP 量の増加が惹起された。
2. ddY マウスで、骨髄の細胞毒性とその細胞のもつ P 活性とはよく相関した。
3. P 活性の本態は細胞膜画分に存在する組織トロンボプラスチンであった。
4. 内毒素投与により、マクロファージ、顆粒球画分の P 活性が対照に比べそれぞれ 7 倍、3 倍に亢進した。
5. 細胞毒性、骨髄内有核細胞減少反応いずれにおいても ddY マウスが C3H/He マウスより強く反応し、C3H/HeJ マウスはまったく反応しなかった。
6. P 活性では、100 μg の内毒素投与で ddY マウスで 7.0 倍の P 活性亢進を示し C3H/He マウスでは 2.9 倍であった。HeJ マウスはまっ

たく P 活性亢進を示さなかった。HeJ マウスでは 500 μ g の内毒素に対しても P 活性は対照のわずか 1.5 倍に亢進したのみであった。

7. 血清 FDP 量においても 3 系統マウスの内毒素に対する感受性が異なり、ddY マウスが最も感受性が高く、ついで C3H/He マウスであり、HeJ マウスでは LAP (lipid A associated protein) を多量に含む Boivin 型内毒素 500 μ g 投与でもまったく陰性であった。

これらのことから、内毒素性 DIC 発症に骨髓細胞（マクロファージ、顆粒球）の膜由来の組織トロンボプラスチンの作用を介した外因性凝固系活性化が重要な役割をもつことが、さらに強調された。

本論文の要旨は第 6 回日本血栓止血学会（1983 年）において発表した。また、本研究は岩手医科大学陸陵会学術振興会共同研究助成金（1981～1983 年）および文部省科学研究費補助金 No. 57570177（1982～1983 年）によった。

文 献

- 1) McKay, G.D.: Vessel wall and thrombogenesis-Endotoxin. *Thrombos. Diathes. Haemorrh.*, **29**; 11～26, 1973.
- 2) Rivers, R.P.A., Hathaway, W.E. and Weston, W.L.: The endotoxin-induced coagulant activity of human monocytes. *Br. J. Haematol.*, **30**; 311～316, 1975.
- 3) Lerner, R.G., Goldstein, R. and Cummings, G.: Endotoxin induced disseminated intravascular clotting: Evidence that it is mediated by neutrophil production of tissue factor. *Thromb. Res.*, **11**; 253～261, 1977.
- 4) 平田陸正, 角田伸子, 稲田捷也, 毛利英満, 工藤一顕, 吉田昌男: 内毒素投与による骨髓内細胞毒性と骨髓細胞の凝固亢進作用。血液と脈管, **11**; 609～612, 1979.
- 5) 平田陸正, 角田伸子, 稲田捷也, 吉田昌男: 内毒素血症における骨髓細胞の Procoagulant 活性の亢進（その本能について）。血液と脈管, **12**; 285～288, 1980.
- 6) Hirata, M., Inada, K., Tsunoda, N. and Yoshida, M.: Relationship between cells in bone marrow and intravascular coagulation in endotoxemia. *Bacterial Endotoxins and Host Response*; Elsevier/North-Holland Biomedical Press, p.255～272, 1980.
- 7) 平田陸正, 角田伸子, 稲田捷也, 遠藤重厚, 吉田昌男: 内毒素血症と血液凝固系, 1. 脾細胞の Procoagulant 活性とその性状。血液と脈管, **13**; 233～236, 1982.
- 8) Hirata, M., Yoshida, M., Inada, K. and Yaegashi, S.: The role of coagulation system in the cytotoxicity of the bone marrow reactions by endotoxin. *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, **31**; 184～187, 1978.
- 9) Morrison, D.C., Betz, S.J. and Jacob, D.M.: Isolation and characterization of the fraction of LPS responsible for mitogenesis of C3H/HeJ spleen cells. *J. Exp. Med.*, **144**; 840～846, 1976.
- 10) Morrison, D.C. and Cochrane, C.G.: Direct evidence for Hageman factor (Factor XII) activation by bacterial lipopolysaccharides (endotoxins). *J. Exp. Med.*, **140**; 797～811, 1974.
- 11) Pryz, H., Lyberg, T., Detilex, P. and Allisson, A.C.: In vitro stimulation of tissue thromboplastin activity in human monocytes by immune complexes and lectins. *Thromb. Res.*, **15**; 465～474, 1979.
- 12) Muhlfelder, T.W., Niemetz, J., Kreutzer, D., Beebe, D., Ward, P. and Rosenfeld, S. I.: C5 chemotactic fragment induces leukocyte production of tissue factor activity. A link between complement and coagulation. *J. Clin. Invest.*, **63**; 147～150, 1979.
- 13) Hirata, M., Yoshida, M., Tsunoda, N. and Inada, K.: Endotoxemia and blood coagulation. Procoagulant activity of mouse bone marrow cells. *Bacterial Endotoxins*, Edited by Westphal, O, Verlag Chemie, in press, 1984.
- 14) Kaparati, J., Varadi, K. and Elodi, S.: Activation of clotting factor VII by granulocyte proteases. At the 19th Congress of the International Society of Haematology (Budapest, August 1～7, 1982). p.362 (abstract).
- 15) Hawiger, J., Collins, R.D. and Horn, R.G.

- : Precipitation of soluble fibrin monomer complexes by lysosomal protein fraction of polymorphonuclear leukocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **131**; 349~353, 1969.
- 16) Hüttemeier, P.C., Watkins, W.D., Peterson, M.M. and Zapol, W.M.: Acute pulmonary hypertension and lung thromboxane release after endotoxin infusion in normal and leukopenic sheep. *Circ. Res.*, **50**; 688~694, 1982.
- 17) Spagnuolo, P.J., Ellner, J.J., Hassid, A. and Dunn, M.J.: Thromboxane A2 mediates augmented polymorphonuclear leukocyte adhesiveness. *J. Clin. Invest.*, **66**; 406~414, 1980.
- 18) 平田陸正, 角田伸子, 稲田捷也, 吉田昌男: 骨髓, 脾細胞由来の酸可溶性蛋白の凝固系に対する作用. ヘパリンおよびトロンビンへの影響. 血液と脈管, **14**; 494~497, 1983.

● 疾病の免疫遺伝学的アプローチ!

HLA と 疾病

月刊「臨床免疫」第14巻冬季特別増刊号

編集 慶応大学教授 渡辺 格、東海大学教授 辻 公美、専門医22氏分担執筆

B5判 144頁 定価3,500円(〒300円)

HLAは、免疫遺伝学的マーカーの一つとして、最近特に注目されており、疾病の遺伝要因を解明する有力な手段として期待されている。本書は各種疾患とくに難病とHLAの関連性を追求し、HLAと難病に関するすべてのデータを整理して1冊にまとめた。またHLA検査の方法、データの分析法についても詳細に解説し、誰でも検査を確実にできる手引き書でもある。

●内容: 序文, 第1章 難病とHLA, 日本の現況, 第2章 HLAと疾病, 世界の現況, 第3章 疾患とHLAの相関—その機序, 第4章 HLA分析の問題点, HLA-D/DRと臨床応用, 第5章 疾患とHLA, 1. ベーチェット病とHLAとの相関, 2. 突発性難聴とHLA, 3. 特発性心筋症とHLA, 4. サルコイドーシスとHLA, 5. 潰瘍性大腸炎のHLA, 特にDR抗原よりの検討, 6. 潰瘍性大腸炎とHLA抗原, 7. 特発性門脈圧亢進症におけるHLA抗原の検討, 8. 21-OHase欠損とHLA, 9. 家族性アミロイドニューロパチーとHLA, 10. 血管炎とHLA, 11. 腎障害とHLA, 12. 再生不良性貧血とHLA, 第6章 HLA検査の方法論, 1. HLA-A, B, C, DRタイピング, 2. HLA検査の方法論—HLA-D, 3. Primed Lymphocyte Typing (PLT) 手技, 4. ヒト免疫グロブリン・アロタイプ, 5. HLA検査の方法論—統計処理。