ウィルス肝炎患者血清のリンパ球毒性

小沢 真弘

日本医科大学第1外科学教室(主任:代田明郎教授)

日本医科大学衛生学・公衆衛生学教室(指導:栗木秀夫教授)

緒言

近年,ある種の疾患における患者血清が,健康者あるいは自己のリンパ球に対して細胞毒性作用を示す事実が現象として捉えられている。Klein ら^{1,2)}は,パーキットリンパ腫患者血清について,免疫蛍光抗体法を用いて細胞毒性の存在を示し,Herberman 一派は³⁻⁷⁾,パーキットリンパ腫,白血病患者血清リンパ球毒性に関して,リンパ球の組織培養によってさらに詳細な報告をおこなっている。

一方,これら悪性新生物患者血清の細胞毒性とは別に,種々のウィルス感染症患者⁸⁾あるいはその病態に自己免疫機構の存在が考えられている全身性エリテマトーデス(SLE),リウマチ性関節炎などの患者血清中の末梢静脈血リンパ球に対する毒性作用についての報告もなされている^{9,10)}。しかし,ウィルス感染症のうちでもウィルス肝炎はその発生頻度,慢性移行あるいは肝硬変,肝癌との関連を含めた予後などから重視すべきであるが,その詳細な報告は乏しい^{11,12)}。

各種感染症の患者血清が示すリンパ球毒性現象の発現については,病原ウィルスのリンパ球への直接的侵襲,患者血清中の特殊な新生蛋白あるいはリンパ球表面における抗原抗体反応などいくつかの原因が考えられており,それぞれ病態との関連が追究されているが,その機序に关してはなお推論の域を脱していない。また,疾患の種類,病態によって必ずしも単一の因子のみでは説明しえない側面をも有している。

著者は,ウィルス肝炎の集団発生をみた地域における急性肝炎患者および遷延性肝機能異常者の血清中に, *in vitro* でリンパ球毒性作用を示す症例が存在することを認め,このリンパ球毒性作用の本態の解析をおこなうとともに,本現象とウィルス肝炎の病態との関連を明らかにする目的でこの研究をおこなった。

OZAWA, MASAHIRO: Lymphocytotoxic activity in sera of the patients with viral hepatitis.

実験材料および方法

被検血清:疫学的調査ならびに臨床所見,検査所見からウィルス肝炎との診断が確実な症例のうち,黄疸発現後2週以内の患者血清を急性期血清とした。また,肝機能検査の経時的追跡調査¹³⁾からみて,発症後2年以上に渉って再燃をくり返す症例ならびに遷延状態を持続する患者血清を慢性期血清としてあつかった。血清は分離後直ちに -20°C で凍結保存し,使用時には一部を新鮮保存血清として,一部を非働化(56°C , 30分)血清として実験に供した。血清は実験時にミリポアフィルター(0.45 μ)で濾過して用いた。なお,使用し患者血清は,移植,頻回輸血,不適合妊娠,悪性腫瘍,肝炎以外の重篤な感染症,慢性疾患などの既往歴のない患者からえられたものである。

末梢血リンパ球の分離:リンパ球の分離は Sever-son ら¹⁴⁾の方法に準じ,これに若干の変更を加えた。すなわち,健康者(肝炎既往のない供血者)静脈血10 ml から遠心分離により buffy coat をえ,これを低張溶液中で処理して混入赤血球を溶血させ,等張に戻したのち,さらに遠心によって白血球層を採取した。これを自己血漿浮遊細胞液とし,木綿糸(コード No. 6)を用いたガラスカラム(1×15 cm)中で 37°C , 20分間静置してから,自己血漿とともに通過させた¹⁵⁾。この方法で分離した細胞は $90 \pm 2.5\%$ がリンパ球であり,その細胞生存率はトリパンプルー法により $93 \pm 4\%$ であった。リンパ球は実験当日に複数の健康者から提供をうけ,おのおのリンパ球浮遊液を分離作製し,細胞生存率が90%以上の場合のみ実験に用いた。

補体:正常ウサギより採取した新鮮血清を低温($2 \sim 6^{\circ}\text{C}$)下においてヒトA B型およびO型赤血球で吸収処理し補体として用いた。吸収処理ウサギ血清は直ちに -20°C で使用時まで凍結保存した。血清の補体価は,ウシ血球を抗ウシ血球ウサギ血清(溶血素)で

感作した血球溶液により測定し、Mg 加生理食塩水で
使用時に 20~30 倍希釈して、5~7 単位補体価稀釈
液を用いた。

細胞培養および観察方法：Eagle MEM（ニッスイ
の、日水製薬、10% 仔ウシ血清加）培地で 1×10^6 個/
ml に調製したリンパ球浮遊液 0.025 ml を microtray
（U 型）で 37°C、30 分間培養後、被検血清 0.025
ml、補体 0.05 ml を加え、実験目的に応じて温度条
件を変えてさらに 3 時間培養した。培養後リンパ球に
0.1% トリパンブルーを加え、1 分後に位相差顕微鏡
で染色細胞（死細胞）の算定をおこなった。被検血清
の代りに対照血清（健康成人男子 5 名から採取した血
清を混合し、予め細胞毒性試験によって健康者リンパ
球に対する毒性をまったく認めなかった血清であり、
使用時まで -70°C で保存した。）を加えたものと比
較して死細胞数が 30% 以上多い場合を細胞毒性（+）、
50% 以上多い場合を（++）と判定した。なお、死細
胞率はリンパ球 200 個中におけるトリパンブルー染色
細胞数の百分率で算出した。また、被検血清の一系列
細胞に対する培養トレイ数は 3 とし、百分率は 3 トレ
イの算術平均で表現した。

血清免疫グロブリン値の測定：一次元免疫拡散法に
よる定量用寒天プレート（Immuno-Plate, Hyland,
USA）を用いて被検血清の IgM, IgG, IgA を定量
した。

被検血清中の免疫グロブリンの吸収除去：被検血清
に抗ヒト IgM (μ -chain) ヤギ血清または抗ヒト IgG

(H-chain, lamda 型 L-chain, kappa 型 L-chain)
ヤギ血清を等量加え、室温で 2 時間混合処置をおこな
い、25,000 rpm、20 分間遠心したものの上清を吸収
血清として使用した。なお、IgG 吸収において被検血
清の一部は 2 倍ないし 4 倍量の抗 IgG 血清を必要と
した。吸収に用いた抗血清はいずれも Hyland Ltd.
から提供を受けた。吸収血清はゲル免疫電気泳動分析
により、IgM または IgG 該当免疫沈降線の消失を確
認し、その一部は sephadex G-200 カラムクロマト
グラフィーの pattern から吸収除去を立証した。な
お、吸収用抗血清のヒトリンパ球に対する細胞毒性の
有無は既述の方法によって検討し、細胞毒性を認めな
いことを確認した。

HB_s 抗原および抗体の検出：交差免疫電気泳動法⁽¹⁶⁾
(immunoelectrosyneresis, IES) によって HB_s 抗原
ならびに抗体の定性検出をおこなった。さらに放射
能免疫測定法⁽¹⁷⁾ (radioimmunoassay, RIA) による
HB_s 抗原、受動的赤血球凝集反応⁽¹⁸⁾ (passive hema-
gglutination, PHA) による HB_s 抗体の相対的定量
検出をおこなった。

肝機能検査：血清トランスアミナーゼ値 (GOT,
GPT) について reitman-frankel 法 (ESGOT, 中
外製薬) により所定の方法で測定した。

成績

1. 患者血清の細胞毒性

表 1, 2 は急性期血清 (12 例) および慢性期血清

表 1 ウイルス肝炎患者急性期血清における細胞毒性

血清番号	年齢	性別	保存血清			非働化血清					
						補体(-)			補体(+)		
			4°~8°C	15°~18°C	37°C	4°~8°C	15°~18°C	37°C	4°~8°C	15°~18°C	37°C
1	21	女	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2*	21	女	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	28	女	-	+	-	-	-	-	+	+	-
4	30	女	+	+	-	-	-	-	+	+	-
5*	33	女	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	36	男	-	-	-	-	-	-	-	+	-
7	36	男	-	-	-	-	-	-	+	+	-
8**	45	男	-	-	-	-	-	-	+	+	-
9	47	女	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	47	男	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	59	男	-	-	-	-	-	-	+	+	-
12	61	男	-	-	-	-	-	-	-	+	-

* IES 法 RIA 法で HB 抗原陽性, ** RIA 法でのみ HB 抗原陽性

補体(+) : 補体(吸収処置ウサギ新鮮血清)添加, 補体(-) : 補体添加せず

表 2 ウイルス肝炎患者慢性期血清における細胞毒性

血清番号	年齢	性別	保存血清			非働化血清								
						補体(-)			補体(+)					
			4°~8°C	15°~18°C	37°C	4°~8°C	15°~18°C	37°C	4°~8°C	15°~18°C	37°C	4°~8°C	15°~18°C	37°C
1	33	女	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
2	35	女	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
3	40	男	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
4	41	男	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	43	男	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
6	45	男	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
7	48	男	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	48	男	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
9	48	男	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	52	男	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
11	52	女	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	56	女	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	57	男	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
14	58	女	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	58	女	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	59	男	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	60	男	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
18	64	男	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
19	71	男	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
20	75	男	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(20 例) の培養ヒトリンパ球に対する細胞毒性発現の成績を示したものである。-20°C で凍結保存された血清では急性期、慢性期両群を通じて 3 例が細胞毒性陽性であったが、非働化処理によってこの 3 例も陰性化した。非働化血清は全例陰性であった。しかし、これらの非働化血清に補体を添加することによって、18 例 (56%) に細胞毒性が発現した。

補体添加による成績を温度反応性の面からみると、37°C ではこの細胞毒性は発現せず、より低温で反応することが示された。細胞毒性を認めた急性期血清 12 例中 7 例、慢性期血清 20 例中 11 例は、いずれも 15~18°C において全例が陽性を示し、また 4~8°C の場合に比較して死細胞率の上昇しているものが多いことから、著者のおこなった温度条件下では 15~18°C でもっとも鋭敏に細胞毒性が発現されるものと考えられた。

すなわち、この細胞毒性因子は補体依存性であり、37°C では反応せず、より低温で活性を発現することを示す成績がえられた。

被検血清の稀釈による細胞毒性力価の変化を、細胞毒性がもっとも強く発現された条件 (15~18°C、補体添加) のもとで観察した成績を表 3 に示した (無稀釈

表 3 細胞毒性力価 (15~18°C、補体添加)

血清番号		稀釈倍数										
		4	8	16	32	64	128	256	512	1024		
急性期血清	3	+	+	+	+	+	+	-	-	-		
	4	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
	6	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
	7	+	+	+	+	+	+	-	-	-		
	8	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
	11	+	+	+	+	+	+	+	-	-		
	12	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
慢性期血清	1	+	+	+	+	-	-	-	-	-		
	2	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
	3	+	+	+	+	-	-	-	-	-		
	5	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
	6	+	+	+	+	+	+	-	-	-		
	8	+	+	+	+	+	+	+	-	-		
	10	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
	13	+	+	+	+	+	+	-	-	-		
	16	+	+	+	+	+	+	+	+	-		
	17	+	+	+	+	-	-	-	-	-		
	19	+	+	+	+	-	-	-	-	-		

稀釈倍数は最終稀釈濃度で示す。

血清は、培養時最終稀釈濃度として 4 倍稀釈に相当する)。細胞毒性力価は急性期血清、慢性期血清ともに

症例によって不定であり、両群に明確な差異は示されなかったが、16～512 倍にわたって毒性が認められた。なお、細胞毒性陽性における死細胞率は30～78%にわたって観察され、稀釈力価と死細胞率が必ずしも平衡しない場合もあった。

2. 血清トランスアミナーゼ値と細胞毒性

図 1, 2 に急性期ならびに慢性期血清の GOT 値, GPT 値と細胞毒性の関係を示した。両群とも細胞毒性はこれらトランスアミナーゼ値のレベルとは無関係に存在すると考えられる成績がえられた。

3. 血清免疫グロブリン値と細胞毒性

図 3, 4 は各症例群の細胞毒性と血清免疫グロブリン IgM, IgG 値との関係を示したものである。両症例群ともに IgM 値, IgG 値が増しているものが多い(正常値範囲: IgM 80～160 mg/100 ml, IgG 800～1,600mg/100 ml)。急性期血清では IgM 9 例, IgG 5 例が、慢性期血清では IgM 11 例, IgG 13 例が正常値範囲を越えた増加を示していた。また、細胞毒性は IgM 増加例と密接な関連を有していると考えられる成績がえられた(図 3)。すなわち、細胞毒性を示す急性期血清 7 例中全例が IgM 値 180～320 mg/100 ml, 慢性期血清 11 例中 9 例(81.8%)が 180～300 mg/100 ml であり、細胞毒性陰性例に比して IgM 値は高い傾向を示した。

IgG 値については、その保有レベルと細胞毒性陽性

例との間に認むべき関連はえられなかった(図 4)。

なお、IgA 値は慢性期症例の 1 例(52 才, 女, 細胞毒性陰性)に増加がみられたのみで、他はすべて正常範囲(120～400 mg/100 ml)を維持していた。

発症時より 2 年 3 カ月(59 才, 男)および発症 3 年後から 2 年 3 カ月に涉って追跡しえた症例(48 才, 男)の免疫グロブリン IgM, IgG 値の動態と細胞毒

図 6 遷延型症例 (48 才, 男) におけるトランスアミナーゼ値, IgM ならびに IgG 値と細胞毒性との関係

性的変化を図 5, 6 に示した. この 2 例は血清トランスアミナーゼ値の動きからみて再燃型ならびに遷延型症例と考えられる. 両症例において, 細胞毒性陽性は持続的なものではなく, 採血時期によっては陰性化していた. また, IgM 増加期に陽性である傾向が認められるものの, 必ずしもその陰性化は IgM 正常化を伴ってはいなかった.

トランスアミナーゼ値の変動と細胞毒性の変化は, これらの症例においてとくに認むべき成績がえられなかった.

4. 細胞毒性の性状

細胞毒性の発現が補体依存性であることは表 1, 2 に示したごとく明らかであり, また, 細胞毒性と血清中の IgM 値との関連が認められたことから, これを発現する物質が IgM に属する蛋白とも考えられたので, 細胞毒性陽性血清の免疫グロブリン (IgM, IgG) を吸収処置したうえで $4\sim 8^{\circ}\text{C}$, $15\sim 18^{\circ}\text{C}$, 補体存在下において細胞毒性試験をおこなった. 表 4 に示すごとく, 急性期血清 7 例中 6 例, 慢性期血清 11 例中 10 例が IgM 吸収処置によって細胞毒性が陰性化した. 吸収に用いた抗血清添加による被検血清の稀釈

表 4 IgM, IgG 吸収処置による細胞毒性の変化

	血清番号	免疫グロブリン値 (mg・dl)		吸収前		吸収後					
		IgM	IgG	$4^{\circ}\sim 8^{\circ}\text{C}$	$15^{\circ}\sim 18^{\circ}\text{C}$	IgM 吸収		IgG 吸収		IgM・IgG 吸収	
						$4^{\circ}\sim 8^{\circ}\text{C}$	$15^{\circ}\sim 18^{\circ}\text{C}$	$4^{\circ}\sim 8^{\circ}\text{C}$	$15^{\circ}\sim 18^{\circ}\text{C}$	$4^{\circ}\sim 8^{\circ}\text{C}$	$15^{\circ}\sim 18^{\circ}\text{C}$
急性期血清	3	320	2,200	+	+	—	—	—	+	—	—
	4	240	1,440	+	+	—	—	—	+	—	—
	6	200	800	—	+	—	—	—	+	—	—
	7	240	1,800	+	+	—	—	—	+	—	—
	8	180	980	+	+	—	—	—	+	—	—
	11	260	2,640	+	+	—	+	—	+	—	—
	12	280	1,240	—	+	—	—	—	+	—	—
慢性期血清	1	240	1,800	—	+	—	—	—	+	—	—
	2	200	3,020	+	+	—	—	—	+	—	—
	3	150	1,440	+	+	—	—	—	+	—	—
	5	300	2,860	+	+	—	—	+	+	—	—
	6	220	2,480	+	+	—	+	—	+	—	—
	8	240	1,240	+	+	—	—	+	+	—	—
	10	120	2,200	—	+	—	—	—	+	—	—
	13	260	1,440	+	+	—	—	—	+	—	—
	16	220	3,260	+	+	—	—	—	+	—	—
	17	180	1,960	—	+	—	—	—	+	—	—
	18	180	980	+	+	—	—	—	+	—	—

度は培養時稀釈力価として8倍であるから、表3の結果よりみてこれらの成績は血清稀釈によるものではなく、IgM 吸収による細胞毒性の陰性化であると考えられた。

15~18°C の反応条件で急性期血清1例、慢性期血清1例は、死細胞率はそれぞれ55% から32%, 58% から35% と減少したが本判定基準による陰性化はみられなかった。

IgG 吸収血清は15~18°C で全例がその毒性を維持した。吸収前と比較して死細胞率の低下している血清(急性期血清 No. 4, No. 11, 慢性期血清 No. 6, No. 13) が認められたが、これらの血清はIgG 吸収による血清稀釈力価が培養時稀釈力価として12~20倍であったことから、これは血清稀釈による死細胞率低下と考えられた。また、吸収前4~8°C で細胞毒性陽性であった急性期血清5例全例、慢性期血清8例中6例がIgG 吸収後陰性化した。この温度条件における吸収前の細胞毒性陽性力価がすべて培養時稀釈16倍未満であったことから、この成績はIgG 吸収によるものではなく血清稀釈による陰性化と考えられた。

IgM・IgG 吸収血清(3~6倍稀釈)をコロジオンバッグを用いて約1/3に濃縮した血清(培養時稀釈力価は約4~8倍)はすべて細胞毒性が陰性化した。

以上の結果から、予測したごとく本細胞毒性因子が主としてIgM 分画に存在することが示唆された。

5. HB. 抗原および抗体と細胞毒性

HB. 抗原は急性期血清においてIES 法で2例、RIA 法で3例に検出された(表1)。細胞毒性はRIA 法でのみ検出された1例(急性期血清8例)が陽性であった。

PHA 法によるHB. 抗体価と細胞毒性との関係を図7に示した。急性期血清2例、慢性期血清6例が16倍以上の抗体価をもって陽性であったが、細胞毒性陽性例および死細胞率とHB. 抗体価との関連は認められなかった。

考案

ヒト培養組織細胞に対する血清細胞毒性因子についてはパーキットリンパ腫、白血病における細胞毒性抗体あるいは白血病にみられるヒト末梢血リンパ球に対する細胞毒性蛋白体¹⁸⁾などが報告されている。その細胞毒性発現の機序の解明は悪性新生物の病態解析に重要な糸口を与えるものと期待され精力的な研究がすす

図7 HB. 抗体(PHA 法)と細胞毒性

められてきた。しかし、その後、悪性新生物のみならず種々の疾患においていくつかの細胞毒性因子が指摘され、なかでも伝染性単核症、風疹、麻疹の患者血清中にヒト末梢血リンパ球に対する細胞毒性因子が存在することを示した Mottironi ら⁸⁾の報告は、ウィルス感染症とリンパ球の免疫学的反応性との関連について興味ある問題を提起した。

著者はウィルス肝炎に関して、患者血清が in vitro で健康者末梢血リンパ球に対して細胞毒性を発現する事実を認めたが、この現象は急性期血清、慢性期血清ともにほぼ同程度の発現率を示した。ウィルス肝炎患者血清の細胞障害性は、とくに流行性肝炎(infectious hepatitis)患者において、その急性期血清が健康者末梢白血球の有糸分裂を阻害し¹⁹⁾、培養リンパ球のフィトヘムアグルチニンによる芽球化を阻止すること²⁰⁾、さらには患者白血球の染色体変形^{21,22)}などが報告されており、肝炎の活動性ウィルス血症の状態においてはウィルスの直接的な侵襲によって細胞障害が発現することが主張されている。しかし、ウィルス障害説の提唱者らも、いわゆる血清肝炎ウィルスの carrier と思われる供血者の血清が4年後まで培養リンパ球に対して mitotic suppression を示す事実を認めていることから、これをウィルス肝炎における急性発症期、すなわち viremia での特異的現象としてのみ捉えることはできない。著者が示した細胞毒性は急性期、慢性期の両血清に存在しており、補体添加のもとで発現し、

免疫グロブリン反応性であること併せ考えれば、病原体を含めた抗原刺激によって生じた何らかの抗体活性を有する因子とリンパ球との反応の結果発現された免疫現象と考えるのがより普遍的であろう。この細胞毒性は反応温度に特異的な性格を示しており、著者が検討した 32 例はすべて 37°C において細胞毒性を認めなかった。また、5~8°C、15~18°C で細胞毒性を認めたが、陽性例は 15~18°C でもっとも多く現われ、死細胞率も高いものが多かった。伝染性単核症についての成績⁴⁾によれば、細胞毒性は 25°C で示す例も一部あるが 30°C 以上、5°C 以下では示さず、15°C においてもっとも著明に認められている。

細胞毒性陽性血清を抗 IgM 血清で吸収処置することによって 18 例中 16 例 (88.9%) が陰性化することから、この毒性が主として IgM 分画に存在することが考えられるが、15~18°C において IgM 吸収のみでは陰性化せず、同時に IgG 吸収をおこなうことによってはじめに陰性化する血清が 2 例認められた。しかし、この 2 例も 5~8°C の条件では IgM 吸収のみで毒性が陰性化している。Kreisler ら²³⁾は、ワクチン接種者の血清中の細胞毒性は sephadex G-200 によるゲル濾過の主として IgM 分画に存在するとのべているが、Williams ら²⁴⁾は 22°C において発現する妊婦、頻回輸血者、SLE 患者血清中の細胞毒性は IgG 分画に存在すると主張している。これらの事実から、ウィルス肝炎においても 20°C 前後のより高温条件で活性化される細胞毒性因子が IgG 分画に存在することが考えられるが今回の成績からは把握しえなかった。

伝染性単核症にみられる細胞毒性低温抗体は血清 IgM 値および IgA 値と相関を有していることが報告されている⁸⁾。著者の成績では免疫グロブリン値と死細胞率との間には相関を認めなかったが、細胞毒性陽性例に IgM 増加例の多いことが示された。免疫グロブリン動態追跡例においても細胞毒性陽性期に IgM 値が増加している場合が多く、抗体グロブリン産生過程における IgM 増加の意義からもこの細胞毒性因子が生体の免疫反応と何らかの関連を有していることを示唆する成績である。しかし、被検血清の選択、リンパ球の HL-A 系による型判定¹²⁾、反応出現の条件から HL-A 抗体による細胞毒性は否定できる。

以上の考案から、本論文でのべたウィルス肝炎患者血清に認められる細胞毒性因子は低温特異性を有し、補体依存性で、主として IgM 分画に存在する細胞毒

性物質であると考えられる。そして、ある種のウィルス感染症 (伝染性単核症、風疹、麻疹)⁴⁾にみられる細胞毒性因子と非常に類似した性格を有しているが、ウィルス肝炎に関して同様な細胞毒性の存在については Kreisler ら²⁵⁾の少数例が報告されたのみである。それによると、4 例中 3 例に補体依存性低温 (15°C) の細胞毒性が陽性であったことが記されているが詳細はのべられていない。今回著者が対象とした 32 例の急性期、慢性期血清において細胞毒性陽性例は 18 例であったが、これらは血清トランスアミナーゼ値のレベル、臨床症状の程度とは無関係に存在していた。

HB。抗原を検出したのは急性期血清 3 例であったが、細胞毒性陽性を示したのは RIA 法によってのみ抗原を検出した 1 例であった。そして、RIA 法に比較して約 1/200 の鋭敏度とされている IES 法で抗原が検出された他の 2 例では陰性であった。抗原検出症例が少なく、検出した抗原もいわゆる HB 表面抗原²⁶⁾であるため詳しい考察は差し控えたいが、少なくともこの 3 例の結果からは HB。抗原力価が本細胞毒性に影響しているとは推定できなかった。また、PHA 法による HB。抗体保有血清ならびに抗体価との間には認むべき関連はえられなかった。

ウィルス性疾患以外に SLE、リウマチ性関節炎患者、妊婦、腎移植者、悪性腫瘍患者あるいはワクチン接種者の血清中に類似の細胞毒性因子の存在が報告されている^{9,23,27,28)}。このような事実からは本細胞毒性がウィルス肝炎に特異的なものであるとは認めがたい。また、伝染性単核症、風疹などのウィルス感染症やインフルエンザ、ポリオ、痘瘡などの不活化および生ワクチン接種者血清中²³⁾に程度の差こそあれ、いずれも同様な細胞毒性作用が認められることから、この細胞毒性因子が抗原特異性のきわめて低い免疫グロブリンであるかも知れない。しかし、持続的免疫状態にあるものほど細胞毒性が強い傾向にあるとの報告²³⁾は興味深い。著者の成績では細胞毒性発現率は急性期、慢性期血清で差が認められなかったが、死細胞率は慢性期血清に著明な症例が多く認められた。Tobias ら²⁹⁾の指摘したように、肝炎におけるリンパ球の免疫学的反応性を無視すべきではないし、遷延性感作でみられるリンパ球の芽球化現象³⁰⁾と同様の機序による現象がウィルス肝炎についても病原体を含めた多くの抗原と反応するリンパ球系の存在のもとに考えられる。

結論

ウィルス肝炎の地域流行をみた地区の急性肝炎患者および慢性肝機能異常者 32 例を対象として、その血清中に存在する健康ヒト末梢血リンパ球に対する *in vitro* での細胞毒性作用について検討をおこない、つぎのような成績と結論がえられた。

- 1) 急性期血清 7 例、慢性期血清 11 例が健康ヒト末梢血リンパ球に対して細胞毒性作用を示した。
- 2) 細胞毒性作用は補体存在のもとで発現した。
- 3) この細胞毒性作用は 37°C では発現せず、より低温で認められたが 15~18°C においてもっとも強く発現した。
- 4) 細胞毒性は患者血清の IgM 吸収除去処置をおこなうことによって消失した。
- 5) ウィルス肝炎患者血清のリンパ球毒性発現因子は、血清 IgM 分画に属する低温反応性の物質であり、補体をその細胞毒性発現に必要とするリンパ球親和性の免疫現象に関連した因子であることを示唆している。
- 6) 細胞毒性陽性血清においては、血清免疫グロブリン IgM 値が増加していた。
- 7) 細胞毒性陽性血清は血清トランスアミナーゼ値、HB_s 抗体レベルとの関連が認められなかった。

稿を終るに臨み、本研究にあたって終始多大なるご指導、ご教示をいただいた衛生学・公衆衛生学教室、柚木斉教授、埼玉医科大学細菌学教室市川洋一教授に深く感謝いたします。また、実験をご指導くださった衛生学・公衆衛生学教室吉川泉講師ならびに教室員の方々に感謝いたします。

本論文の要旨は第 44 回、45 回、46 回、47 回日本伝染病学会総会において発表した。

なお、本研究の一部は昭和 47 年度文部省奨励科学研究費によっておこなわれた。

文献

- 1) Klein, G., Clifford, P., Klein, E., and Stjernswärd, J. : Search for tumor-specific immune reactions in Burkitt lymphoma patients by the membrane immunofluorescence reaction. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, **55**, 1628, 1966.
- 2) Klein, E., Clifford, P., Klein, G., and Hamberger, C. : Further studies on the membrane immunofluorescence reaction of Burkitt lymphoma cell. *Int. J. Cancer*, **2**, 27, 1967.
- 3) Herberman, R.B., and Fahey, J. L. : Cytotoxic antibody in Burkitt's tumor and normal human serum reaction with cultures of lymphoid cells.

- Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **127**, 938, 1968.
- 4) Herberman, R.B. : Cytotoxic natural antibody in human with wide crossreactivity. *Fed. Proc.*, **27**, 609, 1968.
- 5) Herberman, R.B. : Studies on the specificity of human cytotoxic antibody reactive with cultures of lymphoid cells. *J. Nat. Cancer Inst.*, **42**, 69, 1969.
- 6) Fass, L., and Herberman, R.B. : Evaluation of a complementdependent human cytotoxic antibody reactive with Burkitt's lymphoma biopsy cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **133**, 286, 1970.
- 7) Herberman, R.B., and Nam, J. : Cytotoxic antibody reactive with cultures of lymphoid cells. Occurrence in disease and normal human sera. *L. Nat. Cancer Inst.*, **47**, 489, 1971.
- 8) Mottironi, V.D., and Terasaki, P.I. : Lymphocytotoxins in disease. (1) Infectious mononucleosis, rubella, and measles. *Histocompatibility testing* 1970, p. 301, Munksgaard, Copenhagen, 1970.
- 9) Terasaki, P.I., Mottironi, V.D., and Barnett, E.V. : Cytotoxins in disease. Autocytotoxins in lupus. *New Engl. J. Med.*, **283**, 724, 1970.
- 10) Mittal, K.K., Rossen, R.D., Sharp, J.T., Lidsky, M.D., and Butler, W.T. : Lymphocyte cytotoxic antibodies in systemic lupus erythematosus. *Nature*, **225**, 1255, 1970.
- 11) 吉川泉, 市川洋一 : 伝染性肝炎血清の培養リンパ球に対する影響. *医学と生物学*, **81**, 197, 1970.
- 12) 吉川泉, 小沢真弘, 市川洋一 : 伝染性肝炎患者血清のリンパ球毒性発現. *医学と生物学*, **83**, 111, 1971.
- 13) 吉川泉, 般若和弘, 柚木斉, 栗木秀夫, 市川洋一 : 猿島肝炎に関する免疫血清学的検討——免疫グロブリン値ならびに HIM 力価について——. *感染症学雑誌*, **43**, 334, 1970.
- 14) Severson, C.D., Frank, D.H., Stokes, G., Seepersad, M.F., and Thompson, J.S. : Rapid collection of human leukocytes or lymphocytes from peripheral blood. *Transplantation*, **8**, 535, 1969.
- 15) Ichikawa, Y. : Appraisalment on the methods investigating the reactivity of bone marrow cell standing on the experimental completion of erythroid cell isoimmunization. *Acta Haematol. Jap.*, **34**, 129, 1971.
- 16) 吉川泉 : 猿島肝炎 (流行性肝炎) の免疫血清学的研究. *感染症学雑誌*, **47**, 1, 1973.
- 17) 豊島滋, 瀬戸淑子, 稲垣真理子, 富岡一 : オーストラリア抗原, 抗体の radioimmunoassay. *小児科臨床*, **24**, 3044, 1971.
- 18) Dickson, A. : Lymphocytotoxins in leukemia. *Br. Med. J.*, **4**, 209, 1972.
- 19) Mella, B., and Lang, D.J. : Leukocyte mitosis. Suppression *in vitro* associated with acute infectious hepatitis. *Science*, **155**, 80, 1967.
- 20) Willems, F.C., Melnic, J.L., and Rawls, W.E. : Viral inhibition of the phytohemagglutinin response of human lymphocytes and application to viral hepatitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **130**, 652, 1969.
- 21) Mella, B. : Chromosomal damage associated with infectious hepatitis and its possible teratogenic

- significance. *Neurology*, **18**, 741, 1968.
- 22) Mella, B., and Taswell, H.F. : Suppression of leukocytic mitosis by sera of hepatitis-implicated donors. *Am. J. Clin. Pathol.*, **53**, 141, 1970.
 - 23) Kreisler, M.J., Hirata, A.A., and Terasaki, P.I. : Cytotoxins in disease. (3) Antibody against lymphocytes produced by vaccination. *Transplantation*, **10**, 411, 1970.
 - 24) Williams, R.C., Emmons, J.D., and Yunis, E.J. : Studies of human sera with cytotoxic activity. *J. Clin. Invest.*, **50**, 1514, 1971.
 - 25) Kreisler, M., Naito, S., and Terasaki, P.I. : Cytotoxins in disease. (5) Various diseases. *Transplantation Proc.*, **3**, 112, 1971.
 - 26) Maugh, T.H. : Hepatitis : A new understanding emerges. *Science*, **176**, 1225, 1972.
 - 27) Shaw, J.F. : Lymphocytotoxins in lupus erythematosus. *Ala. J. Med. Sci.*, **8**, 210, 1971.
 - 28) Naito, S., Mickey, M.R., Hirata, A., and Terasaki, P.I. : Autolymphocytotoxins following immunization by pregnancy, transplantation, and disease. *Tissue Antigen*, **1**, 219, 1971.
 - 29) Tobias, H., Safran, A.P., and Schaffner, F. : Lymphocyte stimulation and chronic liver disease. *Lancet*, **1**, 193, 1975.
 - 30) Häyry, P., and Defendi, V. : Allograft immunity in vitro. I. Cultivation condition and mixed lymphocyte interaction of mouse peripheral lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.*, **8**, 345, 1970.

(受付 : 1975 年 5 月 2 日)