原	著

再発性アフタにおける necrotizing factor に関する研究

三 橋 淳

東京医科歯科大学歯学部第2口腔外科学教室（指導：伊藤秀夫教授）

（1980年9月28日 受付）

Studies on Necrotizing Factor in Recurrent Aphtha

Jun Mitsuhashi

The Second Department of Oral Surgery, Faculty of Dentistry,
Tokyo Medical and Dental University
(Director: Prof. Hideo Itoh)

Serum necrotizing factor (NF) activities from patients with chronic recurrent aphtha, Behçet's disease and other oral diseases were examined by intradermal injections of patients' sera to guinea pigs. The relationship between the degree of the NF activity and the serum complement level was analysed. The dermal reactions of guinea pigs were also studied histologically.

Sera from patients with various oral diseases generally showed high NF activity in contrast with healthy control donors.

Histological features of the dermal reaction were characterized by capillary dilation, fibrinoid-like degeneration and necrosis of small vessels, migration of neutrophils and eosinophils, haemorrhage and degeneration of muscle fibers.

Serum NF activity was abrogated by incubating the serum at 56°C for 30 min., or treating the serum with either zymosan or inulin or CVF at 37°C 30 min.

CH50 and AP50 were significantly higher in sera from the donors with high NF activity than the donors with low NF activity. The measurement of serum concentration of C1q, C4, C3, C5, C9, C1INA and C3PA revealed that the levels of C3, C5, C9 and C3PA were elevated in the sera of high NF activities.

These results suggest that the NF activity is closely related to the serum complement.

結 言

Küster¹⁾および Boake²⁾がリウマチ熱および慢性関節リウマチなどの患者の新鮮血清をモルモットの皮内に注射すると、そこに壊死が起こる現象を見出し、この血清因子を壊死因子 (necrotizing factor, 以下 NF と略す) と呼んだ。その後、粕川³⁾はリウマチ熱や慢性関節リウマチ以外の各種の自己免疫疾患に、また、堀川ら⁴⁾は

Behçet 病の発作期に NF 現象が増強することを見出し、NF がこれらの疾患の病態成立に重要な関係があるらしいと考えられるようになった。しかし、NF の本態については、リウマチ因子³⁾ Forssman^{2,3)} 抗体、抗原抗体複合物³⁾、変性 γ -globulin³⁾、CRP⁵⁾、蛋白分解酵素⁶⁾などの既知の血清因子から説明しようとする試みはすべて失敗に終わり、また、その化学的不安定性から生化学的あるいは免疫化学的な方法による NF の分離

および同定の試みも現在のところ成功していない^{7,8)}。また、血清補体との関係については、不活化された血清に補体を加えてもその生物学的活性が回復しない、血清補体価と NF の生物学的活性との相関はみられないなどの報告があり、補体の関与にはさまざまな見解が^{2,3,5,6,9)}あって、まだ十分には解明されていないように思われる。

一方、再発生アフタが主要症状の 1 つである Behçet 病の発作期にしばしば NF 現象がみられる点⁴⁾は注目されることで、このことから Behçet 病と類似の口腔症状を示し、しかも類縁関係にあるとの見解も示されている Mickulicz 型の再発生アフタの発作にも NF が何程か関係しているのではないかと推測される。そこで著者は Behçet 病および慢性再発生アフタを中心に、数種の口腔疾患患者の血清中の NF 活性を測定するとともに、NF 現象の組織学的所見を検討し、併せて、本因子と補体の関係について検討を行い、若干の興味ある知見を得たので報告する。

対象疾患および研究方法

A. 対象疾患および症例数

対象疾患は慢性再発生アフタと Behçet 病で、前者は昭和52年1月より54年12月までに本学第2口腔外科を受診した43例(54検体)で、後者は当科の7例と東京女子医大眼科から提供を受けた11例の計18例(19検体)である。Behçet 病の症型は厚生省 Behçet 病調査研究班の診断基準¹⁰⁾により完全型8例、不全型10例に分類された。

また、対照として健康人 25名(26検体)、急性顎炎11例(13検体)および口腔悪性腫瘍21例(22検体)についても同様な検索を行った。

B. 研究方法

I. NF の判定法

採取された末梢静脈血から血清を分離し、その 0.1 ml を体重 250 g 以上の Hartley 系モルモットを剃毛し、消毒した体幹側面皮膚に 26 G の注射針を用いて皮内注射した。血清は新鮮なものと、 -80°C に凍結保存したものとの 2 種類である。24 時間後にエーテルでモルモットを殺し、皮膚を筋

層から剥離して、その裏面に生じた炎症反応を緒方の分類¹¹⁾に準じて次の 5 段階、すなわち、

0 : 浮腫も発赤もないもの

I : 発赤を示すもの

II : 毛細血管が拡張し、充血を伴うもの

III : 赤紫色の出血巣が径 7 mm 以下のもの

IV : 出血巣が径 8 mm 以上で、その中心が壊死を示すもの

に分けて肉眼的に判定した。出血ないしは中心壊死の明確な III および IV を高 NF 活性群、0 ~ II を低 NF 活性群として、各疾病群における高 NF 活性群の出現頻度を χ^2 検定あるいは Fisher の直接確率計算法で検定、比較した。

II. NF 活性の組織学的観察

a) 皮内注射24時間後の反応の組織学的観察

被検血清、後述する処理を加えた血清、および対照として生食液のそれぞれ 0.1 ml/ ずつを、上記の要領でモルモットの皮内に注射し、24時間後の反応を組織学的に観察した。皮膚は筋層を含めて切除し、リン酸緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン切片とし、H. E. 染色した。また、Giemsa 染色、toluidine blue 染色および Masson 染色を適宜行った。toluidine blue 染色は pH 8.0 でモルモットの肥満細胞の良好な異染性が得られるので、0.1% toluidine blue (pH 8.0) 1 分を標準的な染色条件とした^{12,13)}。

b) 皮内注射後の反応部位の経時的観察

被検血清は -80°C に凍結保存しておいたものを室温にもどして用いた。血清を皮内注射してから 2 分、5 分、10 分、15 分、30 分、45 分、1 時間、2 時間、3 時間、4 時間、5 時間、6 時間、12 時間、18 時間および 24 時間後にモルモットをエーテルで殺し、a) と同じ方法で組織標本を作製した。なお、反応部位の血管透過性の経時変化をみるために、数匹のモルモットには、屠殺 15 分前に、5% pontamine sky blue 生食液の 0.8 ml を、後肢の足背静脈から注入して¹⁴⁾、反応部位にみられた青斑の直径を測定した。

III. NF と Shwartzman 現象との比較

Shwartzman 現象と本因子による壊死を比較す

るために、0～IVのNF活性を持つ各種ヒト血清の0.1mlをモルモットの皮内に注射し、その24時間後に、0.1% lipopolysaccharide (LPS, E. coli. Sigma社) 生食液の0.1ml (約0.2mg/kg) を足背静脈内に惹起注射し¹⁵⁾、炎症巣の変化を観察した。

IV. NFと補体との関係

a) 被検血清の1) 56°C 30分加熱処理、2) Zymosan 処理¹⁶⁾、および3) Inulin 処理¹⁷⁾がNF活性に及ぼす影響を検討した。1) は血清を56°Cの恒温槽中で30分加熱処理したものであり、2) は100°Cで1時間煮沸したZymosan A (Sigma社) の0.2mgを血清0.2mlに加えて37°Cで30分間incubateしてから、4°Cで、4,000 r.p.m. 30分遠沈を行って、Zymosanを分離した上澄の血清である。また、3) はInulin (Merck) 社を被検血清に10mg/mlの割合で加えて37°Cで30分間incubateしてから、4°Cで4,000 r.p.m. 30分遠沈後の上澄の血清である。血清に加えるInulinの濃度は、あらかじめ各種濃度について予備実験を行って、その5mg/ml以上でNF活性が消失するのが確認されたので、本研究では10mg/mlの濃度を採用した。

以上の3種の処理血清の0.1mlをモルモット皮内に注射した。

b) モルモットおよび被検血清のCVF処理がNF活性に及ぼす影響を検討した。NFによる反応にはモルモット自身の補体が関与している可能性が考えられるため、Cobra Venom Factor (CVF, Cordis社) で脱補体を行ったモルモットを用い、反応発現の有無を調べた。また、逆にCVFで補体を消費した被検血清をCVF処理と無処理モルモットのそれぞれ皮内に注射し、反応発現の有無を調べた。モルモットのCVF処理は、蒸留水にCVFを20単位/ml (以下単位はすべてCordis単位) に溶かし、この250単位/kgを24時間に4回に分けてモルモットの腹腔内に投与した。最終投与の8時間後に被検血清を皮内注射し、その24時間後の反応の有無を上記によって判定した¹⁸⁾。なお、モルモットのCVFによる脱補体の様相を

確認するために、CVF投与直前、血清の皮内注射直前、屠殺直前の3回、心臓穿刺で約0.3ml採血して補体価を測定した。一方、被検血清のCVF処理は、血清に10単位/mlのCVFを混ぜ、37°Cで30分間incubateした後、そのままをモルモットの皮内に注射した。対照としては、10単位/ml CVF生食液のみの皮内注射を行った。

c) 血清のclassical pathway活性とNF活性との比較

被検血清の補体のclassical pathwayはMayerのCH50法¹⁹⁾によって測定し、高NF活性群と低NF活性群とのCH50値を比較した。

d) 血清のalternative pathway活性とNF活性との比較

被検血清の補体のalternative pathwayはethylene glycol tetraacetic acid (EGTA, Sigma社) 存在下におけるウサギ赤血球の溶血を利用した中山らのAP50法²⁰⁾によって測定し、高NF活性群と低NF活性群とのAP50値を比較した。なお、ウサギ赤血球は実験終了まで同一ウサギから採血したものを使用した。

e) 補体成分蛋白量とNF活性との比較

C1q, C4, C3, C5, C9, C1INA, C3PA (C3 Activator と抗原的に同一)²¹⁾ の7種類の補体成分蛋白量を一元平板免疫拡散法で測定し、高NF活性群と低NF活性群とに分けて比較、検討した。なお、C4, C3, C1INA, C3PAについてはHoechst社のPartigenで測定し、C1q, C5, C9についてはHoechst社の抗血清とAgaroseで免疫拡散板を作製し測定した²²⁾。前者の単位はmg/dl, 後者は各免疫拡散板における健康人の平均値を100とした百分率で表現した。

研究結果

A. 慢性再発性アフタおよびBehçet病におけるNFの発現頻度

対照を含む各種の口腔疾患別のNFの発現頻度は図1のごとくで、各疾患群では健康人群に比べNF活性が上昇する傾向がみられた。すなわち、高NF活性群の出現頻度は、Behçet病では19検

NF 活性	Ⅳ	・	⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮
	Ⅲ	⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮ ⋮ ⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮ ⋮ ⋮
	Ⅱ	⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮ ⋮ ⋮		⋮ ⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮
	Ⅰ	⋮ ⋮ ⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮ ⋮ ⋮	・	⋮ ⋮ ⋮
	0	⋮ ⋮ ⋮	⋮ ⋮ ⋮	・	・	・
疾 患		健 康 人	慢性再発性 アフタ	Behçet病	急性炎症	悪性腫瘍
症例数		26	54	19	13	22
高NF %		15 %	56 %	68 %	54 %	68 %

図1 各種口腔疾患におけるNFの発現頻度

体中13検体(68.4%)、慢性再発性アフタでは54検体中30検体(55.5%)で高く、急性顎炎および悪性腫瘍も、それぞれ13検体中7検体(53.8%)、22検体中15検体(68.2%)で、いずれも健康人の26検体中4検体(15.4%)に比して、5%の危険率で有意差があった。Behçet病と慢性再発性アフタとの間には、高NF活性群の出現頻度に有意差がみられた。Behçet病と慢性再発性アフタの発作期と緩解期におけるNF活性を比較すると、前者の発作期10検体中7検体(70%)、緩解期9検体中6検体(66.7%)に高NF活性がみられ両病期間に有意差はみられなかった。また、後者の発作期38検体中の21検体(55.3%)、緩解期16検体中の9検体(56.2%)に高NF活性がみられ、有意差はみられなかった。慢性再発性アフタ

9例については経過を追って検討したが、アフタの有無によるNFの変動に一定の傾向は認められなかった(図2)。

なお、急性顎炎3例中の1例はNF活性の変動がみられなかったが、2例には、症状の緩解に伴って活性の低下がみられた。また、悪性腫瘍14例をUICC(1973)のStage分類²³⁾で分類して比較すると、StageⅢおよびⅣの進行癌群では11検体中10検体が高NF活性を示し、StageⅠおよびⅡの初期癌群の3検体はいずれも低活性であった。

B. モルモット皮膚におけるNF反応部位の組織学的観察

I. 皮内注射24時間後の組織学的所見

a) 患者血清群

図2 慢性再発性アフタの各病期における NF 活性

陽性反応部位では、好中球を主体としたかなり強い炎症性細胞浸潤と水腫、細小静脈を主とした血管の拡張とうっ血、および血管壁の類線維素変性様所見ないしは壊死が主要な組織学的所見であり、小動脈の変化は比較的弱かった(図3)。白血球の浸潤はかなり広範囲であり、また、脱顆粒を示す好酸球も認められた。真皮層および皮下組織中の肥満細胞数は正常組織よりも減少しており、また、筋線維の変性から崩壊に至る像もみられた。

b) 56°C 30分加熱処理血清および Zymosan 処理血清群

両者の所見はほぼ同様で、血管の拡張とうっ血、軽度の好中球および好酸球の浸潤がみられたが、筋線維の変性、血管壁の変性あるいは血栓様構造物などはみられなかった。好酸球の脱顆粒は Zymosan 処理血清群でわずかにみられたが、56°C 30分加熱処理血清群にはその所見はなかつ

図3 血清注射24時間後の組織像 (H. E. 染色 ×42)

た。

なお、生食液あるいは Zymosan 生食液群では軽度の血管拡張のみで、それ以上の変化はみられなかった。

c) CVF 処理血清群

血管の拡張とうっ血、好中球の浸潤、ならびに筋線維のかなり強い変性などがみられたが、血管壁の類線維素変性様変化あるいは血栓様構造物はみられなかった(図4)。モルモットを CVF 処理し、血清は無処理の群では、筋線維の変性はみられず、主として小静脈に血管壁の類線維素変性様

図4 CVF 処理血清注射24時間後の組織像 (H. E. 染色 ×33)

図5 C VF 処置モルモット (gp II) に無処理血清を注射 24 時間後の血管壁の変化 (H. E. 染色 $\times 520$)

変化および出血がみられたが、血管周囲への白血球浸潤は弱く、血栓様構造物もみられなかった (図5)。

II. 皮内注射後の経時的組織学的観察

NF 陽性反応の経時的変化は次のようであった。

a) 2 分後

注射部位を中心として、血管の拡張と血行静止がみられ、小静脈壁の一部に変性を思わせる像がみられたが、一般に変化は微弱であった。肥満細胞数は著しく減少しており、正常皮膚の約半数になっていた。皮膚筋層の筋線維に横紋の消失、線維の膨化および一部に融解などの像がみられた (図6)。筋線維の崩壊は周囲性のものばかりでなく、中心部にむしろ強い変化がみられるものもあった。

図6 血清注射 2 分後の組織標本 (H. E. 染色 $\times 340$)
筋層の変性

b) 5 ~ 30 分後

真皮層の細小血管の拡張およびうっ血は時間の経過とともに強まっており、血管内の赤血球密度の増加がみられた。小静脈壁の構造が不明確なものもあったが、小動脈壁の変化は軽微であった。肥満細胞数は正常皮膚の約 1/10 と最低値であった。筋線維の変性、崩壊像はさらに深層に広がっていた。

c) 45 分 ~ 1 時間後

細静脈から小静脈にかけての血管壁は膨化および硝子様化した変性像がかなり明瞭であった (図7)。血管周囲に白血球の浸潤および赤血球の漏出がみられ、血管内に赤血球の凝集した血栓様構造物がみられた。筋線維の変性はかなり強いが、

図7 血清注射 1 時間後の組織標本 (H. E. 染色 $\times 520$)
小静脈壁の類線維素様変性

図8 血清注射 3 時間後の組織標本 (H. E. 染色 $\times 210$)
血管壁の変性および血管炎

以後は、それ以上の変化の進行はみられなかった。

d) 2～4時間後

小静脈壁の血管炎(図8)および類線維素変性様変化は著明で、好中球の血管周囲性の浸潤がみられ、また水腫性の変化も強まっていた。

e) 5～6時間後

好中球および好酸球の浸潤は血管周囲からさらに広がっており、血管壁の類線維素変性様変化あるいは壊死も強まり、細小血管には壁の構造が不明瞭なものが少なくなかった。肥満細胞数は正常皮膚組織の約半数にまで回復していた。

f) 12時間後

白血球の浸潤は最高に強く(図9)、一部の好酸球に脱顆粒が認められた。血管内には血栓様構造物がところによりみられ、血管壁の類線維素変性様変化は小静脈よりむしろ細静脈のほうに多く認められた。

g) 18～24時間後

I-a) および12時間後の所見とほぼ同じであった。

pontamine sky blue を使用した観察では、注射5分後から注射部位に急激に青斑が広がり、1～3時間で最大径になり、以後減少し、6時間以後は最大時の約半分の直径であった。

C. Schwartzman 現象の惹起実験結果

provocative の静注前後とも、皮膚の NF 反応部位に変化はみられず、Schwartzman 現象は惹

図9 血清注射12時間後の組織標本(H. E. 染色
×210)
白血球の浸潤

起されなかった。

D. NF と補体との関係

I. 血清の 56°C 30分加熱処理, Zymosan 処理, Inulin 処理が NF 活性に及ぼす影響

NF 陽性患者血清の56°C 30分加熱処理後の NF 活性は図10および図11に示すようで、活性は明らかに減弱した。なお、加熱処理後に補体源として NF 活性のない健康人血清を加えても活性は復活しなかった。

Zymosan 処理後の血清でも、NF 活性は減弱ないし消失した。Zymosan を生食液に 1 mg/ml の濃度で溶解して 37°C 30分間 incubate し、それを皮内注射しても軽度の発赤がみられるのみで、Zymosan そのものによる起炎作用はみられなかった。また、Zymosan で NF 活性を失った血清に再度補体源を加えても NF 活性は回復しなかった。

Inulin 処理血清でも NF 活性は減弱ないし消失した。なお、Inulin のみでは Zymosan 同様にモルモット皮膚に起炎作用を示さなかった。

II. CVF 処理が NF 活性に及ぼす影響

CVF 処理したモルモットを I 群(gp I)と II 群(gp II)とに分け、無処理のモルモットを III 群(gp III)と IV 群(gp IV)とに分けて、CVF 処理した血清を gp I と gp III の皮内に、無処理血清

図10 56°C 30分加熱処理, Zymosan 処理による NF の消失

- ① 無処理血清(慢性再発性アフタ), NF 活性は III
- ② 同一血清を56°C 30分加熱処理, NF 活性は 0
- ③ 同一血清を Zymosan 処理, NF 活性は 0

図11 血清の56°C 30分加熱処理, Zymosan 処理, Inulin 処理がNF活性に及ぼす影響

を gp II と gp IV の皮内に注射した。

CVF 投与前には 237 単位/ml および 314 単位/ml の血清補体価を示した gp I および gp II は CVF 投与により、ほとんど 0 単位/ml に近い値まで補体価が低下し、この状態は実験終了まで持続した。

図12の gp IV では血清①、②および③はそれぞれ NF 判定基準の III, 0, I を示しており、生食液の④は反応 0 である。前もって CVF 投与しておいた gp II に無処理血清を注射しても反応にはほとんど変化がなかったが (図12-⑨~⑪), CVF 処理血清では無処理のモルモット (gp III) でも、NF 活性はすべて消失した (図12-⑤~⑦)。この場合、CVF 混入生食液は強い起炎作用を示すが (図12-⑧), CVF で脱補体したモルモット (gp I) では、この起炎作用は消失した (図12-⑫)。

Ⅲ. CH50 と NF 活性との比較

健康人13検体の CH50 の平均値は 32.4 ± 9.4 単位/ml で、Behçet 病 (17検体) のそれは 47.0 ± 6.0 単位/ml、慢性再発性アフタ (21検体) のそれは

図12 モルモットおよび血清の CVF 処理の NF 活性への影響

41.1 ± 13.1 単位/ml、急性顎炎 (10検体) のそれは 51.0 ± 10.9 単位/ml、悪性腫瘍 (10検体) のそれは 50.3 ± 12.8 単位/ml で、いずれも健康人に対し有意の上昇であった (表 1)。Behçet 病群の CH50 平均値は再発性アフタのそれよりも有意の高値であったが、病期別にみると緩解期の平均値は 46.5 単位/ml、発作期のそれは 47.5 単位/ml で、両者間に有意差はなく、ともに健康人群より有意の高値であった。また、慢性再発性アフタの緩解

表1 各種疾患における CH50 および AP50

疾患 補体価	健康人	慢性再発性 アフタ	Behçet病	急性顎炎	悪性腫瘍
CH50 (単位/ml)	32.4±9.4 (13)	41.1±13.1↑ (21)	47.0±6.0↑ (17)	51.0±10.9↑ (10)	50.3±12.8↑ (10)
AP50 (単位/ml)	39.2±4.6 (11)	41.2±8.2↑ (18)	51.2±8.7↑ (13)	43.1±11.7↑ (7)	45.2±8.8 (3)

( ) 内は症例数, ↑は健康人に比べ5%の危険率で有意に上昇していることを示す。

期は37.1単位/ml, 発作期は42.7単位/mlで, 両者間に有意差はなく, また, 緩解期の平均値は健康人群のそれと有意差はみられなかった。

全群を高 NF 活性群と低 NF 活性群とに分けて CH50 の平均値を比較すると, 前者は 47.5単位/ml, 後者は 40.5単位/ml で, 前者が有意の上昇 ($P<0.01$) であった(図13)。

IV. AP50 と NF 活性との比較

健康人11検体の AP50 の平均値は 39.2 ± 4.6 単位/ml, Behçet病(13検体)のそれは 51.2 ± 8.7 単位/ml, 慢性再発性アフタ(18検体)のそれは 41.2 ± 8.2 単位/ml, 急性顎炎(7検体)のそれは 43.1 ± 11.7 単位/ml, 悪性腫瘍(3検体)のそれは 45.2

±8.8 単位/ml で, Behçet病, 慢性再発性アフタおよび急性顎炎に AP50 の上昇がみられた(表1)。また, Behçet病の病期別では, 発作期が 51.5単位/ml, 緩解期が51.0単位/mlで, 両者間に有意差はみられず, また, 慢性再発性アフタも発作期が41.3単位/ml, 緩解期が41.1単位/mlで, 有意差はなく, いずれも健康人群の平均値とは有意差を示した。全群を高 NF 活性群と低 NF 活性群とに分けて AP50 を比較すると, 前者は46.8単位/ml, 後者は38.7単位/mlで, 前者が有意の上昇 ($P<0.005$) であった(図13)。

V. 補体成分蛋白量と NF 活性との比較

健康人および各疾患群における C1q, C4, C

図13 CH50 および AP50 と NF 活性との比較

表 2 各種疾患における補体成分蛋白量

補体成分	疾 患	健 康 人	慢 性 再 発 性 ア フ タ	Behçet 病	急 性 顎 炎	悪 性 腫 瘍
C1q	(%)	102.5±7.7 (8)	110.9±16.1↑ (11)	89.0 (1)	101.5±7.8 (2)	104.0±32.0 (2)
C4	(mg/dl)	32.2±7.8 (9)	35.7±10.1 (10)	40.1±12.4 (13)	43.8±8.4↑ (7)	45.3 (1)
C3	(mg/dl)	75.4±15.0 (7)	106.6±11.3↑ (5)	100.4±20.8↑ (11)	88.2±10.1 (5)	n. d.
C5	(%)	98.9±3.1 (8)	102.0±14.1↑ (11)	122.0 (1)	100.5±12.0↑ (2)	84.0 (2)
C9	(%)	100.0±8.5 (8)	122.8±19.9↑ (11)	141.0 (1)	125.0±2.8↑ (2)	129.5±16.3↑ (2)
ClINA	(mg/dl)	31.8±3.1 (6)	29.4±5.1 (5)	29.2±3.5 (10)	35.4±7.4↑ (6)	n. d.
C3PA	(mg/dl)	15.9±8.4 (10)	16.6±6.4↑ (24)	24.4±9.6↑ (5)	29.3±7.0↑ (6)	24.1±7.8↑ (7)

( ) 内は症例数, ↑は健康人に比べ5%の危険率で有意に上昇していることを示す。n. d.は実験されていないことを示す。

3, C5, C9, ClINA, C3PA (C3Activator) の7種類の補体成分蛋白量は表2のようで、各疾患群のC9とC3PAは健康人群より高値であった。C4, C3, ClINAおよびC3PAの測定値でBehçet病と慢性再発性アフタを比較すると、C3PAのみに有意差が認められた。

7種類の補体成分蛋白量とNF活性とを比較した結果は図14~15のようで、高NF活性群が有意の蛋白量の上昇を示したのはC3 ($p<0.05$), C5 ($p<0.005$), C9 ($p<0.05$), C3PA ($p<0.05$) であった。

考 察

1897年に Uhlenhuth²⁴⁾ がヒトを含む各種動物の血清をモルモットの皮内に注射すると、そこに炎症反応が起こることを報告して以来、ヤギ、ウサギ、モルモット、牛および豚などの血清の起炎作用が研究されてきた^{2, 25, 26)}。それによると、ヒトおよびヤギの血清に特に強い反応がみられ、しばしば反応部位は壊死に陥ることが知られている。一方、ヒトの血清をモルモット、ウサギ、ラット、イヌ、マウスおよびヒトに皮内注射した場

合でも、特にモルモットの皮膚に強い壊死反応が起きることが確認されている^{2, 3, 7, 27)}。Küster¹⁾および Lovell²⁾はヒト血清によるモルモット皮膚の壊死性反応は特にリウマチ性疾患で強く発現することを報告し、その後 Schaffer⁵⁾, Klemperer⁷⁾, 粕川³⁾, Moskowitz⁸⁾ および 堀川⁴⁾ は諸種の炎症性疾患、特にその急性症状期にNF活性の上昇がみられることを報告している^{2-4, 7, 8)}。

このように、NFに急性期反応物質(acute phase reactant)としての機能が疑われるのは急性炎症性疾患の場合にはその活性が強く、しかも、臨床症状の推移に一致して活性の変動がみられる症例が多いことによるもので、Boake²⁾はT.A.Bワクチンで全身発熱をきたした症例にNFの一過性の上昇を観察しており、また、堀川⁴⁾はBehçet病の発作期にNF活性の上昇がみられたと報告している。しかし、心筋梗塞あるいは悪性腫瘍のような非炎症性疾患の場合にもNF活性の上昇がみられるとの報告^{3, 7, 8)}があり、また、急性炎症性病変の有力な指標とされているCRPや赤沈速度などとは必ずしも相関しないとの報告^{3, 5, 7)}もあるので、NFを直ちに急性炎症期の反応物質とはい

い難いと思われる。一方、NF 活性は良性腫瘍では上昇がみられず、悪性腫瘍、特に遠隔転移を含めた進行例に上昇がみられるのは、腫瘍の発育、増大に伴った組織破壊によって産生された物質、あるいはそれによる炎症反応と関係がある可能性も考慮されている。

著者は Behçet 病および Mickulicz 型の慢性再発性アフタを中心に、数種の口腔疾患における NF 活性を検討して、健康人に比べて有意の上昇がみられる前記の結果が得られたので、その反応部位の組織学的所見ならびに NF 活性と補体との関係を中心に若干の考察を試みた。

図14 C9, Clq, C3 および C4 蛋白量と NF 活性との比較

図15 C3PA, CIINA および C5 蛋白量と NF 活性との比較

A. 組織学的所見について

被検血清をモルモットに皮内注射することによって起こる反応の組織学的所見の中で特に注目されたのは筋線維の変性，細小静脈壁の類線維素変性様変化および好酸球の浸潤である。

播種性血管内凝固症候群の動物実験モデルとい

われる局所 Schwartzman 反応²⁸⁾では，血栓が壊死の主要な原因と考えられており²⁹⁾，Ratnof³⁰⁾や Lovell³¹⁾は NF による局所壊死にも血栓形成が関与していると推測している。しかし，著者の実験では，血栓形成は比較的弱く，この点からみると，NF による壊死形成は Schwartzman 現象と

は別の機序によるように思われる。また、LPS の静脈内注射で Schwartzman 反応の惹起を試みてもヒト血清では惹起されず、組織学的にも NF 反応部では出血が血栓形成に先行しており、形成された血栓も典型的なものは少なく、赤血球の外形を残した凝集に近いもののほうが多かった。また、血栓は壊死巣に必発的な所見ではないので、壊死に直結する重要な組織変化ではなく、むしろ炎症反応に付随する現象ではないかと思われる。

一方、細静脈から小静脈を中心とした小血管壁の変性は、血清注入2分後ですでに認められ、その中には類線維素変性に類似した所見のものもみられはじめており、以後、変化が増強する所見が特徴的で、肉眼的な出血の所見と一致していた。しかし、56°C 30分加熱処理血清、Zymosan 処理血清、CVF 処理血清にはこのような血管炎は認められないので、このことは、細小静脈壁が NF の一次的な作用部位である可能性を示しているように思われる。Behçet 病では、病変部における小血管の透過性亢進、白血球浸潤および類線維素性変性から壊死に至る浸出性変化が特徴とされており、この血管壁の変化は小動脈よりは小静脈系に強く現れるといわれている³²⁻³⁵。橋本ら³²)は、Behçet 病の半数以上に毛細血管抵抗の減弱がみられるにもかかわらず、出血時間、凝固時間、プロトロンビン時間および血小板数に異常がみられないことから、毛細血管抵抗減弱の原因として、血液中の血管透過性物質の存在を推測している。また、松本ら³⁶)は Behçet 病の血管病変は全身性に広汎にみられること、および血管壁の変化がその傷害ないし脆弱化を思わせるものであることなどから、血液中の vasotoxic factor の存在を想定している。このような推論は、本研究のモルモット皮膚にみられた血管壁の組織変化にも許されるかもしれないと思われ、興味深い。

以上のような血管病変を含めた組織学的変化がアレルギー性変化として理解できるか否かの問題が提起されよう。Hirashima ら³⁷)の DNP·ascaris を感作源としてモルモットに惹起した皮膚アナフィラキシーの実験とほぼ同程度に肥満細胞の脱顆

粒がみられたことと、好酸球の浸潤^{38, 39})がみられたことなどは、I 型のアレルギー反応が起こっている可能性を示唆する所見ともいえる。また、モルモットの CVF 処理で反応が抑制されない点も局所アナフィラキシー反応と共通的である¹⁸)。しかし、典型的な局所アナフィラキシー反応にみられる2相性の好酸球浸潤および早期の浸出性の変化が著明でない点は I 型アレルギー反応としての解釈に否定的である。

一方、血管透過性の亢進は血栓ないしは血管炎の所見とともに III 型アレルギー (Arthus 反応) の特徴でもある。しかし、林⁴⁰)のウサギを使った Arthus 反応の実験では、血管透過性は5分と4~5時間にピークのある2相性を示すとされているが、本実験では1~3時間に1つのピークが現れたのみであり、また、Arthus 反応では血管周囲への白血球浸潤が比較的早期の所見といわれているのに^{41, 42})、著者の実験では、血管壁の類線維素変性様所見が一次的であり、しかも、CVF 処理モルモットを使った実験では血管周囲への細胞浸潤をほとんど伴わない血管壊死や出血の像もみられたので、この意味で白血球の lysosomal enzyme の放出が組織の炎症の発展に大きな役割を果たしているといわれる Arthus 反応とは趣を異にしている。CVF 処理モルモットに血管外への白血球遊出が弱かったという事実から、無処理モルモットの場合には NF で一次的に障害された血管壁に補体が作用し、C5a, C3a (C3a は遊走作用を持たないという報告もある)⁴³)、C567 等補体由来の白血球遊走因子が放出され、白血球の浸潤を招いたという可能性も考えられる。しかし、いずれにしろ特異抗体の存在が証明されていない現在、I 型あるいは III 型のアレルギー反応の最終的な判断は困難であろう。

最近、血管壁の障害と関連して、吉田ら⁴⁴)はヒト血清中のモルモット皮膚血管透過性因子の存在を提起している。この因子は Elder らが PF/nat⁴⁵)として報告したものと同一で、56°C 30分の加熱処理で失活し、モルモット腎で非特異的に吸着されること、抗ヒスタミン剤では影響を受けない

が、2-mercaptoethanol や D-Penicillamine で反応が抑制されることなど、NF と多くの共通点を有するが、この因子は健康人にも微弱ながら認められる点が NF と異なっている⁴⁶⁾。しかし、NF は濃縮すると健康人にも発現するようになるという報告もあるので、両因子が同一のものである可能性もある。その場合、色素を使って浸出部の直径を測定する方法^{47, 48)}、あるいは色素を抽出する方法で⁴⁹⁾、NF の定量的な解析も可能になるものと思われる。

好酸球の浸潤は 56°C 30 分加熱処理血清や Zymosan 処理血清でも現れるので、NF とは直接の関係はないと思われる。モルモットの末梢血好酸球の比率はおおむね 1～5% の範囲⁵⁰⁾でヒトとはほぼ同程度である。したがって、著者の実験にみられた組織への著明な好酸球の浸潤は、何らかの遊走機序が働いたことを意味するものと思われる。好酸球はアナフィラキシー局所や Arthus 反応局所にも現れるが、これらに関連した因子をも含めて 6 種類ほどの好酸球遊走因子 (ECF) が知られている^{51, 52)}。このうち、モルモット皮膚に発現することが確認されているのは、① C5a⁵³⁾、C567⁵⁴⁾などの補体由来の ECF-C (complement)、② I 型アレルギー反応局所の肥満細胞が産生すると推定され、分子量 500—1,000 の ECF-A (anaphylaxis)^{52, 55, 56)}、③ アナフィラキシー局所に産生され、遅発性の好酸球遊走を招く、分子量 70,000 の ECF-SA (skin anaphylaxis)³⁷⁾ の 3 種類である。著者の実験で CVF 処理モルモットで好酸球の遊出が抑制された事実は、白血球の CVF 処理がウサギの白血球の chemotaxis に影響を与えなかったという報告¹⁸⁾とを考えあわせて、一応 ECF-A の関与を推測させるものではあるが、他の因子あるいは SECA (spontaneous eosinophil chemotactic activity in human sera) として報告されたヒト血清中の同定不能の好酸球遊走因子⁵⁷⁾の関与も否定できず、今後の検討が必要と思われる。好酸球の機能は、その顆粒が肥満細胞から遊離されるヒスタミンや SRS-A (slow reacting substance of anaphylaxis) あるいは PAF (platelet

activating factor) 等の chemical mediator を不活化する酵素を多数含んでいることや、抗原抗体複合物の貪食能を持つことから、炎症反応の抑制であるといわれる^{58, 59)}。この意味で、血清注入 12 時間以後にみられた好酸球の多量の遊出と脱顆粒現象は、この時期にはすでに反応が修復される段階に向かっていることを示す所見と思われる。

B. NF と補体との関係について

I. 方法について

a) モルモットの CVF 処理について

モルモットおよび血清の脱補体に用いた CVF はコブラ毒の精製産物で、全身状態に影響を与えることが比較的少なく、*in vivo* にも使用が可能ことから、Arthus 反応や Shwartzman 反応をはじめ、補体の関与が疑われる反応の実験に多く用いられている^{15, 18, 60-65)}。CVF の全身への影響は、主にウサギおよびラットで調べられており^{15, 18)}、Quick 時間、フィブリノーゲン量、キニノーゲン量、白血球数、血小板数、白血球遊走能等に影響を与えず、Zymosan⁶⁶⁾ あるいは抗原抗体複合物⁶⁷⁾の *in vivo* 投与による脱補体に比べると、補体への選択性の点で優れている。しかし、モルモットでは白血球数およびフィブリノーゲン量の低下がみられ¹⁸⁾、また、大量 (300-400 単位/kg 以上) の静脈内 1 回投与で溶血を起こしたと報告されているが^{68, 69)}、本研究のように 250 単位/kg を 4 回に分けて腹腔内投与する方法では問題がないとされている¹⁸⁾。

CVF による脱補体の様相は実験動物の種類、CVF の投与量、投与方法によっても異なるが、Kahnberg らが Beagle 犬を用いた実験では 36 単位/kg の CVF 腹腔内投与後 12 時間で血清補体価は正常の 5% 前後に減少し、CVF をさらに 24 単位/kg 追加することにより、CVF 最終投与の少なくとも 8 時間後までこの状態は維持されたと報告している。脱補体は同じ CVF の量でも何回かに分けたほうが効果が大きい¹⁸⁾ため、3～5 回に分けて投与する実験が多く、著者の実験でも 4 回に分けて投与したが、これにより高補体動物であるにもかかわらず、モルモットでも十分に満足す

べき血液の低補体状態が得られた。血中補体の低下が持続する時間は比較的長く、CVFの最終投与後、Cochraneら¹⁸⁾は約24時間、Fongら¹⁵⁾は約40時間、Kourounakisら⁶¹⁾は約72時間、血清補体の上昇は認められなかったとしているが、今回の実験でも24時間の実験期間中、血清補体価はほぼ0に保たれていた。

b) alternative pathway 活性 (AP50) 測定について

本研究で alternative pathway 活性の測定に用いた AP50 法は、ウサギ赤血球がヒト血清の classical pathway の関与なしに alternative pathway のみを介して溶血するという Platts-Mills & Ishizaka ら⁷⁰⁾の発見に基づいている。従来の alternative pathway の測定には免疫電気泳動で $\bar{B}$ を証明する方法、好中球の chemotaxis を利用する方法⁷¹⁾、Zymosan 処理後の C3-9 溶血化を測定して間接的に alternative pathway 活性を推定する方法⁷²⁾、CVF による溶血を利用する方法^{73, 74)}等があるが、操作が複雑であったり、高価であったり、あるいは一部の变化をもって alternative pathway 全体の指標とするなどの欠点があった。AP50 法は操作が比較的簡便で、しかも alternative pathway 全体の活性を表現している点で優れている。

宮島ら⁷⁵⁾は同じ原理に基づいた方法 (ACH50) で SLE における alternative pathway 活性の低下を報告し、ACH50 と CH50 との間に正の相関がみられたと報告している。これについて宮島らは classical pathway の活性化によって生じた C3b が positive feed back 機構を介して alternative pathway 活性に影響を与えたと推察しているが、著者の実験では両者に相関がみられなかった。これは ACH50 法は C3 以下の classical pathway と alternative pathway とに共通の部分を強く表現するのに対し、ACH50 法は properdin 系の因子を強く表現するためとも思われるが、対象疾患の違いが影響している可能性も考えられる。ウサギ赤血球を利用した alternative pathway 活性の測定には、この点以外にも、ウサギ血

液中では溶血を生じないという現象や、C9 欠損血清でも溶血が生じるという現象⁷⁶⁾など、なお検討を要する問題も多いが、これらの問題を解明することによって本法は CH50 法に匹敵する有用な臨床的指標となりうると思われるので、今後の基礎的検討および多数の症例の積み重ねが期待される。

II. 結果について

Boake & Lovell²⁾、Schaffer⁵⁾、粕川ら³⁾によると NF と補体との関係は、NF が 56°C 30 分の加熱処理、Zymosan 処理、アンモニア処理、抗原抗体複合物などとの incubation で活性を失い、また、56°C 30 分加熱処理血清に再度補体を加えても NF 活性は復活しないと報告されている。また、血清補体価との関係は壊死を起こす血清の補体価と、それを起こさない血清の補体価との間に有意差がみられず、補体価と壊死巣の直径との間にも有意の相関はみられないといわれている。本研究でも、56°C 30 分加熱処理、Zymosan 処理により NF の活性は失われ、これに補体を再度加えても、NF 活性が復活しないことが確認されたが、classical pathway 活性および alternative pathway 活性とも、NF 活性の強い血清に上昇がみられ、特に、後者とは明らかな相関がみられた。Zymosan, Inulin, CVF は alternative pathway の活性化因子といわれているが、著者の実験でも Zymosan 処理以外、Inulin 処理および CVF 処理で NF の活性消失がみられた。Zymosan, Inulin などの多糖類と CVF とでは、alternative pathway の活性化の機序が若干異なるといわれており⁷⁷⁻⁷⁹⁾、前者⁸⁰⁾では、その表面にできた C3Bb (amplification C3 convertase) が β 1H-globulin や C3INA で分解されるのを防ぐことにより、また、後者ではコブラの C3b といわれる CVF⁸¹⁾が直接 C3PA と結合することにより、それぞれ C3b を中心とした positive feed back 機構が働き、alternative pathway が活性化されるといわれる。NF がこれらの両処理および 56°C 30 分加熱処理で活性が失われるのは、classical pathway と alternative pathway に共通の C3 以下の

late componentの成分の失活,あるいはC3 convertaseを形成するまでのいくつかの経路の成分の同時の失活がNFの活性消失に影響を与えたとも考えられる。しかし, 56°C 30分加熱処理血清やZymosan処理血清に補体を加えてもNF活性の再現がみられなかった点や,モルモットのCVF処理がNFの発現に影響を与えなかった点から,単純に補体のいくつかの成分あるいは活性経路との関係からNF活性の消失を説明することには無理があると思われる。

Klemperer⁷⁾は,凍結乾燥して濃縮された健康人血清中にもNF活性が存在していることから,本因子は健康人血清中にも微量に存在しており,ある種の疾患,特に急性炎症疾患や悪性腫瘍の進行などで増加すると報告している。また, Moskowitz⁸⁾は trypsin inhibitorをNF活性を持たない血清に加えると強い活性を呈することから,炎症性疾患におけるNF活性は単純な炎症の産物ではなく,さらに複雑な機構が働いている可能性も考えられるとしている。

Behçet病および慢性再発性アフタについては補体系の異常が報告されており, Behçet病についてはCH50の上昇⁸²⁻⁸⁴⁾, C9⁸⁴⁻⁸⁶⁾, C3PA⁸²⁾の上昇, C1, C2の低下が⁸²⁾, 慢性再発性アフタについてはCH50の上昇⁸³⁾, C9の上昇⁸⁶⁾が報告されている。また,小暮¹⁷⁾はBehçet病の眼発作の直前にC3PAのC3Aへのconversionがみられることから, Behçet病の発作期の初期に補体がalternative pathwayを介して関与している可能性を示唆している。著者の実験ではBehçet病の発作期と緩解期の間でAP50に有意差がみられなかったが,発作期を発作直前の短時間に絞った場合には両病期間に有意差がみられるかもしれないと考えられる。Behçet病の発作期,緩解期ともにみられたAP50の上昇は,補体が発作に関与しているかどうかは別にしても, alternative pathway活性の異常な亢進を意味するものであろう。Behçet病では,CH50と,補体蛋白量で統計処理のできたC4, C3, C1INA, C3PAのうち, C3とC3PAに健康人に対する有意の上昇が著者の実験

でも確認されており,慢性再発性アフタでもCH50, AP50, C1q, C3, C5, C9, C3PAの上昇が確認された。このCH50, AP50, C3, C5, C9, C3PAの上昇は,高NF活性群で特に著明であって,このことは補体とNFとの密接な関係を暗示する事実として興味深いので,両者の関係の解明が今後の課題であると思われる。

結 論

慢性再発性アフタおよびBehçet病患者血清中のNFについて検索し,以下の結果を得た。

1. NFは慢性再発性アフタおよびBehçet病患者血清中にかなり高率に認められたが,急性顎炎および悪性腫瘍患者血清中にもほとんど同様に高率であった。慢性再発性アフタおよびBehçet病については病期別に検討したが,発作期と緩解期に有意差はみられなかった。

2. モルモット皮膚のNF反応部位の主要な組織学的所見は,血管の拡張,うっ血,血栓形成,細小静脈壁の類線維素変性様変化ないし壊死,好中球および好酸球の浸潤ならびに筋線維の変性などであった。

3. 被検血清の56°C 30分加熱処理, Zymosan処理, Inulin処理, CVF処理でNF活性は消失し,この血清に補体を加えてもNF活性の復活はみられなかった。

4. NF活性の強い血清は弱い血清に比べてCH50およびAP50値が高く,また,C3, C5, C9, C3PA蛋白量も有意の高値であったが,C1q, C4, C1INA蛋白量には有意差がみられなかった。

以上のことからNFは補体そのものではなくとも,補体系と密接に関連したものであることが推測された。

謝 辞

稿を終るにあたり,終始ご懇篤なご指導とご校閲を賜った伊藤秀夫教授,ならびにご校閲を賜った本学第1口腔外科学教室塩田重利教授,本学口腔病理学教室石川梧朗教授に深甚なる感謝の意を表します。また,本研究に際し,ご指導,ご教示をいた

だいた本教室藤林孝司博士, 大野邦博博士, 本学口腔病理学教室那須道世助手に心から謝意を表します。さらに, ご指導ならびに資料採集にご援助をいただいた東京女子医大眼科学教室小暮美津子助教授に感謝の意を表し, また, ご援助をいただいた第2口腔外科学教室員各位に感謝いたします。

本論文の要旨の一部は, 昭和55年2月厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班昭和54年度第2回総会ならびに昭和55年5月第34回日本口腔科学会総会において発表した。

なお, 本研究は文部省科学研究費および厚生省特定疾患研究費による助成によって行われたことを記し, 謝意を表します。

文 献

- 1) Küster, F.: Nachweis Eines Permeabilitäts- und Eines Nekrosefaktors Im Serum Beim Akuten Rheumatismus Im Kindesalter. *Klin. Wschr.*, 30: 999-1000, 1952.
- 2) Boake, W. C. & Lovell, R. R. H.: The necrotizing activity of human sera for guinea-pig skin. *Brit. J. Exp. Path.*, 35: 350-357, 1954.
- 3) 粕川礼司: 慢性関節リウマチ患者血清の生物学的活性に関する研究—モルモット組織障害作用を中心として—. *リウマチ*, 5: 1-18, 1964.
- 4) 堀川正己, 斉藤一字, 森川和雄: Behçet病患者血清中のいわゆる necrotizing factor の研究—(1) 病期との関係—. 厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班 昭和49年度研究業績, 126, 1974.
- 5) Schaffer, D. E.: Further studies into the human serum factor which causes necrosis of guinea-pig skin. *Ann. Allerg.*, 15: 487-498, 1957.
- 6) Mizushima, Y., Kasukawa, R., et al.: Chemical properties of necrotizing factor in the serum from rheumatic patient. *Acta Rheum. Scand.*, 8: 183-191, 1961.
- 7) Klemmerer, F., Fried, R., et al.: Necrotizing factor in human sera. *Brit. J. Exp. Path.*, 43: 116-122, 1962.
- 8) Moskowitz, R. W.: Human serum necrotizing factor: Basic properties and clinical significance. *J. Lab. & Clin. Med.*, 66: 927-936, 1965.
- 9) 水島 裕: 関節リウマチの病因と薬物療法についての最近の研究とその動向. *最新医学*, 20: 104-111, 1965.
- 10) 厚生省公衆衛生局難病対策課, 特定疾患調査研究連絡協議会: 特定疾患の手引き. 1975, 1-2 ページ.
- 11) 緒方富雄: 血清学実験法. 第2版, 東京, 1947, 南山堂書店, 145-146ページ.
- 12) Fischer, E. R.: Tissue mast cells. *J.A.M.A.*, 173: 121-123, 1960.
- 13) 影山圭三, 渡辺陽之輔: 病理組織標本の作り方. 第5版, 東京, 1979, 医学書院, 142-145ページ.
- 14) 小林洋二: 口腔粘膜における抗原抗体反応の研究, 口腔粘膜と皮膚の感受性の比較. *歯基礎誌*, 12: 307-326, 1970.
- 15) Fong, J. S. C., et al.: Prevention of the localized and generalized Shwartzman reactions by anticomplementary agent, cobra venom factor. *J. Exp. Med.*, 134: 642-655, 1971.
- 16) Pillemer, L., Blum, L., et al.: The properdin system and immunity. III. The zymosan assay of properdin. *J. Exp. Med.*, 103: 1-13, 1956.
- 17) 小暮美津子, 大野弓子: Behçet 病における alternate pathway. *日眼会誌*, 79: 172-176, 1975.
- 18) Cochrane, C. G., Müller-Eberhard, H. J., et al.: Depletion of plasma complement *in vivo* by a protein of cobra venom factor: Its effect on various immunologic reactions. *J. Immun.*, 105: 55-68, 1970.
- 19) Kabat, E. A. & Mayer, M. M.: *Experimental Immunochimistry*, 2nd ed., Springfield, 1961, Thomas, C. Co., pp. 133-240.
- 20) 中山秀英, 小山 輝, 他: Alternative pathway を介する補体系の溶血活性の測定法. *臨床免疫*, 10: 505-510, 1978.
- 21) 行山 康: ヒト体液中の補体活性, 補体成分測定値の評価. *日本臨床*, 37: 1048-1053, 1979.
- 22) 大野邦博: 再発性アフタに関する免疫学的研究—慢性再発性アフタと Behçet 病における IgD および IgE について—. *口病誌*, 43: 410-427, 1976.
- 23) UICC International Union Against Cancer: *TNM Classification of malignant tumours*. ed. 2, Geneva, 1974, UICC, pp. 27.
- 24) Uhlenhuth: Zur Kenntnis der giftigen Eigenschaften des Blutserums. *Z. Hyg. InfektKr.*, 26: 384-397, 1897.
- 25) Redfern, W. W.: A study of primary toxicity of heterophile immune rabbit serum for guinea pigs, and its apparent relation to the phenomenon of anaphylaxis. *Amer. J. Hyg.*, 6: 276-310, 1926.
- 26) Aronson, J. D.: The absorption of the toxic substance of normal goat serum by guinea pig tissue. *J. Immun.*, 13: 289-300, 1926.
- 27) 堂野前維摩郷, 他: 病巣感染の成因をめぐって—病巣抗原の提唱—. *日本臨床*, 15: 1642-1654,

- 1957.
- 28) 志賀淳治, 森 亘: DIC とシュワルツマン反応. 医学のあゆみ, 109: 760-767, 1979.
  - 29) Cluff, L. E. & Berthrong, M.: The inhibition of the local Shwartzman reaction by heparin. Bull. Johns Hopkins Hosp., 92: 353-369, 1953.
  - 30) Ratnoff, O. D.: Some relationship among hemostasis, fibrinolytic phenomena, immunity and the inflammatory response. Dixon Jr, F. J. and Kunkel, H. G.: Advances in Immunology., Vol. 10, New York, London, 1969, Academic Press, pp. 145-227.
  - 31) Lovell, R. R. H., Pryce, D. M., et al.: The necrotic lesion in guinea pig skin produced by certain human sera. Brit. J. Exp. Path., 35: 345-349, 1954.
  - 32) 橋本喬史, 清水 保: ベーチェット病の最小血管病変. 厚生省特定疾患系統的血管病変研究班 昭和51年度研究業績, pp. 243-248, 1954.
  - 33) 稲場午朗, 橋本喬史, 他: ベーチェット病における血管炎. 臨床科学, 13: 896-903, 1977.
  - 34) 三好和夫, 白神 暁, 他: ベーチェット病症例の骨髄血管の変化—腸骨骨髄生検組織における観察—. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班 昭和50年度研究業績, pp. 168-173, 1975.
  - 35) 福田芳郎, 渡辺 勇: 腸型ベーチェット病の病理組織学的所見—とくに血管病変について—. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班 昭和52年度研究業績, pp. 116-122, 1977.
  - 36) 松本正朗, 挟間章忠, 他: Behçet病における皮膚眼病変の病理組織学的検討ならびに他疾患との比較から見た Behçet 病の病理学的変化—特に血管の変化を中心として—. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班 昭和48年度研究業績, pp. 81-91, 1974.
  - 37) Hirashima, M. & Hayashi, H.: The mediation of tissue eosinophilia in hypersensitivity reaction. I. Isolation of two different chemotactic factors from DNP-Ascaris extract-induced skin lesion in guinea pig. Immunology, 30: 203-212, 1976.
  - 38) Müller, H. K. & Healy, D. L.: Active cutaneous anaphylaxis in guinea pig. Immunological and inflammatory reactions. Immunology, 24: 1099-1112, 1973.
  - 39) Kay, A. B.: Studies on eosinophil leucocyte migration. I. Eosinophil and neutrophil accumulation following antigen antibody reactions in guinea pig skin. Clin. Exp. Immun., 6: 75-86, 1970.
  - 40) 林 秀男: 炎症, その発生と抑制の機構について. 日病会誌, 56: 37-63, 1967.
  - 41) 藤林孝司: 口腔粘膜における Arthus 反応の研究, 第1報 組織学的研究. 歯基礎誌, 8: 71-82, 1966.
  - 42) Redfern, W. W.: The microscopic changes in heterophil skin reaction. Arch. Path., 6: 585-594, 1928.
  - 43) Fernandez, H. N., Hensen, P. M., et al.: Chemotactic response to human C3a and C5a anaphylatoxins. I. Evaluation of C3a and C5a leukotaxis *in vitro* and under simulated *in vivo*. J. Immun., 120: 109-115, 1978.
  - 44) 吉田 浩, 粕川礼司, 他: ヒト血清の生物学的活性—モルモット皮膚血管透過性活性—. 医学のあゆみ, 93: 314-315, 1975.
  - 45) Elder, J. M., et al.: Enzyme-like globulins from serum reproducing the vascular phenomena of inflammation. V. Activable permeability factor in human serum. Brit. J. Exp. Path., 39: 335-342, 1958.
  - 46) 佐藤幹夫, 吉田 浩, 他: D-Penicillamine のリウマトイド因子・壊死因子および血管透過性因子におよぼす影響. リウマチ, 17: 174-178, 1977.
  - 47) 吉田 秀: 炎症性血管透過の観察法とその限界. 血液と脈管, 6: 15-21, 1975.
  - 48) Miles, A. A., et al.: Vascular reactions to histamine, histamineliberator and leukotaxine in the skin of guinea pigs. J. Physiol., 118: 228-257, 1952.
  - 49) Nakajima, T.: A quantitative method for the measurement of increased vascular permeability. Bull. Tokyo Med. and Dent. Univ., 14: 349-357, 1967.
  - 50) 田中利男: 生理解剖. 安東洪次, 田嶋嘉雄編. 動物実験法. 東京, 1956, 朝倉書店.
  - 51) 鳥巢要道, 田中二郎, 他: 好酸球遊走因子の種類と作用機序. アレルギー, 28: 885, 1979.
  - 52) 富岡玖夫: ECF (Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis)—I 型アレルギー反応における好酸球の役割. 感染・炎症・免疫, 8: 15-26, 1978.
  - 53) Kay, A. B.: Studies on eosinophil leucocyte migration. II. Factors specifically chemotactic for eosinophils and neutrophils generated from guinea pig serum by antigen antibody complexes. Clin. Exp. Immunol., 7: 723-737, 1970.
  - 54) Lachmann, P. J., Kay, A. B., et al.: The Chemotactic Activity for Neutrophil and Eosinophil Leucocytes of the Trimolecular Complex of the Fifth, Sixth and Seventh Components of Human Complement (C567) Prepared in Free Solution by the 'Reactive Lysis' Procedure. Immunology., 19: 895-899, 1970.
  - 55) Kay, A. B., Stechschulte, D. J., et al.: An eo-

- sinophil leukocyte chemotactic factor of anaphylaxis. *J. Exp. Med.*, 133: 602-619, 1971.
- 56) 木村 勇, 山本昇壮, 他: 感作モルモット皮膚からの抗原による試験管内 Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis (ECF-A) 様物質の遊離. *アレルギー*, 28: 717-722, 1979.
  - 57) Robinson, Jr, L. D. & Miller, M. E.: SECA, a new mediator of the human eosinophil response. *J. Allerg. Clin. Immunol.*, 56: 317-322, 1975.
  - 58) 鳥居敏明, 富岡玖夫: 炎症と好酸球. *臨床免疫*, 11: 566-574, 1979.
  - 59) 柴田 進, 八幡義人: 好酸球の形態, 化学的性状, 機能および生体内分布. *内科*, 40: 184-190, 1977.
  - 60) Berenberg, J. L., Ward, P. A., et al.: Tick-bite injury: Mediation by a complement-derived chemotactic factor., *J. Immunol.*, 109: 451-456, 1972.
  - 61) Kourounakis, L., Nelson, Jr, R. A., et al.: The Effect of a Cobra Venom Factor on Complement and Adjuvant-Induced Disease in Rats. *Arthritis. Rheum.*, 16: 71-76, 1973.
  - 62) Kahnberg, K-E., Lindhe, J., et al.: The role of complement in initial gingivitis. I. The effect of deplementation by Cobra Venom Factor. *J. Periodont. Res.*, 11: 269-278, 1976.
  - 63) Maroko, P. R., Carpenter, C. B., et al.: Reduction by Cobra Venom Factor of Myocardial Necrosis after Coronary Artery Occlusion. *J. Clin. Invest.*, 61: 661-670, 1978.
  - 64) Matsuda, T., Martinelli, G. P., et al.: Studies on immunosuppression by Cobra Venom Factor. II. On Responses to DNP-Ficoll and DNP-Polyacrylamide. *J. Immunol.*, 121: 2048-2051, 1978.
  - 65) 溝口靖紘, 森沢成司, 他: 補体成分低下ラットにおける腫瘍細胞増殖の増強について. *日本免疫学会総会記録*, 9: 205-206, 1979.
  - 66) Ward, P. A. & Cochrane, C. G.: Bound complement and immunologic injury of blood vessels. *J. Exp. Med.*, 121: 215-234, 1965.
  - 67) Bier, O. & Siqueira, M.: Prevention by Intravenous Injection of Antigen and Antibody of Passive Arthus Reaction to Unrelated Immune System. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 101: 502-505, 1959.
  - 68) Dodds, W. J. & Pickering, R. J.: Cobra Venom Factor and hemostasis in guinea pigs. *Fed. Proc.*, 30: 286, 1971.
  - 69) Ballow, M. & Cochrane, C. G.: Tow anti complementary factors in cobra venom: Hemolysis of guinea pig erythrocytes by one of them. *J. Immunol.*, 103: 944-952, 1969.
  - 70) Platts-Mills, T. A. E. & Ishizaka, K.: Activation of the alternate pathway of human complement by rabbit cells. *J. Immunol.*, 113: 348-358, 1974.
  - 71) 天野哲基, 大藤 真, 他: SLE の Alternative Pathway. *臨床免疫*, 8: 289-297, 1974.
  - 72) 奥田研爾, 岡田秀親, 他: Behçet病患者における alternative pathway の動態について. 厚生省特定疾患ベーチエット病調査研究班 昭和49年度研究業績, pp. 127-129, 1975.
  - 73) Brai, A. L. & Osler, A.: Cobra Venom Induced Hemolysis. Activity Levels in Sera of Patients with Neoplastic and other Diseases. *J. Exp. Med.*, 136: 950-955, 1972.
  - 74) Brai, M. & Osler, A. G.: Studies of C3 Shunt Activation in Cobra Venom Induced Lysis of Unsensitized Erythrocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 140: 1116-1121, 1972.
  - 75) 宮島啓人, 大藤 真, 他: 全身性エリテマトーデスにおける Alternative Pathway について—ウサギ赤血球溶血反応を利用して—. *アレルギー*, 28: 363-369, 1979.
  - 76) 天野哲基, 宮島啓人, 他: Alternative pathway による溶血活性 ACH50 への C9 の関与. *アレルギー*, 29: 729, 1980.
  - 77) 稲井真弥: 補体に関する免疫化学的研究の進歩—補体系蛋白の命名法をふくむ—. *日本臨床*, 37: 923-929, 1979.
  - 78) 今野孝彦, 芝木秀俊: 補体系の活性化機序と反応プロセス—Alternative pathway—. *日本臨床*, 37: 956-962, 1979.
  - 79) Götze, O. & Müller-Eberhard, H. J.: The C3-Activator system: An alternate Pathway of complement activation. *J. Exp. Med.*, 134: 90s-108s, 1971.
  - 80) 稲井真弥, 平松誠一: 主として多糖類による Alternative Pathway の活性化. *臨床免疫*, 8: 281-287, 1976.
  - 81) Alper, C. A. & Balavitch, D.: Cobra Venom Factor. Evidence for its being altered Cobra C3. *Science*, 191: 1275-1276, 1976.
  - 82) 小暮美津子: Behçet 病における C3 shunt complement pathway. 厚生省特定疾患ベーチエット病調査研究班 昭和48年度研究業績, pp. 271-273, 1974.
  - 83) 伊藤秀夫, 他: Behçet 病ならびに慢性再発性アフタ患者血清中の Secretory IgA および補体価について. 厚生省特定疾患ベーチエット病調査研究班 昭和48年度研究業績, pp. 243-247, 1974.
  - 84) 山名征三: ベーチエット病における血清補体成分と臨床的意義. 厚生省特定疾患ベーチエット病調査研究班 昭和48年度研究業績, pp. 241-

- 245, 1980.
- 85) Kawachi-Takahashi, S., Takahashi, M., et al.:
Elevation of Serum C9 Level Associated with
Behçet Disease. Japan. J. Exp. Med., 44: 485-
487, 1974.
- 86) Adinolfi, M. & Lehner, T.: Acute phase pro-
teins and C9 in patients with Behçet's syndrome
and aphthous ulcers. Clin. Exp. Immunol.,
25: 36-39, 1976.