

実験的ビールス性肝炎の免疫血清学的研究

第 1 編

感染と抗原抗体系の動態に関する免疫血清学的研究

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】

諸 言

近時、免疫病理学領域の著しい発展と共に自己抗体を疾病の成因として重視する自己免疫疾患が注目されるようになり、さらには、その本態の解明に多くの努力と輝かしい業績がみられる。

Hughes, T. P.¹⁾ (1933) は、黄熱病患者の回復期血清中に病原ビールスと無関係の抗体の出現を認め、しかもこの抗体は肝組織障りに起因するものと考えた。その後、殊に流行性肝炎にみられる同種肝組織抗原に対応する抗体（いわゆる肝自己抗体と称す以下同じ）について Eaton, M. D. 等²⁾ (1944) にはじまり、多くの人々によつて³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾ 秀れた知見が報告されてはいるが、その発生機序、生物学的意義、ことにそれら抗原抗体系の病態経過に及ぼす影響、及び臓器アレルギーに対する役割等についてはまだ一致した見解がえられず、特に流行性肝炎ビールスの分離同定の困難な現在では、ビールス感染過程と自己免疫現象の相互関連性の解明には、まだまだ多くの不明の分野を残す現状である。

そこで著者はビールス感染時の Host-Parasite Relationship の系統的解明を急務と考えて、動物実験的にエクトメリア・ビールスを用い人における流行性肝炎と類似のビールス性肝炎を惹起せしめて、感染抗体、肝自己抗体、及び不完全抗体等の各種抗原抗体系の動態を病理組織学所見と共に考察し、さらにまた、ビールス感染による実質臓器の炎症過程における自己免疫（自己アレルギー）の成立の有無、並びにその要因についても若干の検討を加えた。

実験材料および実験方法

1. 使用動物と飼育方法

10~20g の健康市販マウスを使用し、常に汚染、並びに混合感染の防止に留意し、実験条件の均一を

図りながら、20°C 前後の室温で、毎日オリエンタル M 7 号固形飼料で飼育した。

2. 使用ビールス

Hampstead 株エクトメリア・ビールス（以下エ・ビールスと略す）を用い、当該ビールスを腹腔内に接種し、発症極期の感染マウスの肝臓を無菌的に摘出し、滅菌 Tyrode 氏液（以下 T. 液と略す）で乳剤にし、さらに健康マウスの腹腔内に累代接種して毒力を固定した。実験には50%致死量（LD₅₀）10^{-9.3} のビールスを滅菌 T. 液で10倍希釈し、10³ ないし 10¹⁰ 希釈乳剤 0.0 ml をマウス腹腔内に接種した。

1) 各種抗体の測定法

1) 抗原の調整

A. 健康マウス肝 T. 液抽出抗原、及びエ・ビールス感染マウス肝 T. 液抽出抗原。健康マウス、あるいはエ・ビールスを腹腔内に接種後、立毛不活潑な発症期のマウスをそれぞれ股動脈から放血致死させ、無痛に肝臓を取り出し、細切し、滅菌 T. 液で充分脱血洗滌し、Homogenizer 攪拌乳化して10% (W/V) T. 液乳剤とし、Dryice で凍結融解を数回繰返し、24時間氷室に放置後、3000 r. p. m. 30分遠沈して、その上清をとり、T. 液で2倍に希釈して透明な5% T. 液抽出液として使用した。

B. 可溶性ビールス感染肝組織抗原（ビールスを含まない）

前記 A の方法で調製されたビールス感染マウス肝 T. 液抽出抗原を、さらに T. 液で2倍に希釈し、東洋濾紙株式会社製の Membranefilter 9 号（孔径、最大 200 mμ、平均 125 mμ）で粗大粒子を除去し、さらに Ultracellulartilterg（平均孔径 35~100 mμ）で限外濾過し、エ・ビールスを含まない可溶性肝組織抗原を調製した。当該抗原は調製後、直ちにその

0.01 ml を健常マウス 5 匹の後肢足趾皮下に接種し、腫張、壊死の起らないことを確かめ、さらにはニワトリ赤血球凝集反応⁸⁾¹⁰⁾⁹⁾によりビールスの存否を調べて使用した。

なお各 Filter 限外濾液の健常マウス 5 匹の後肢足趾皮下接種後、腫張、壊死等の発症日数及びニワトリ赤血球凝集反応の結果は表 1 のとおりで、平均孔径 35~100 m μ の Ultracellulartfilterg で限外濾過した場合、後肢足趾に腫張、壊死、脱落は十数日の観察の間、認められなかったが、赤血球凝集反応では 40 倍程度の弱陽性価を示し、若干の凝集素の存在がうかがわれたが、より孔径の大きい Membrane-filter 9 号濾液における発症日数で示される感染力と血球凝集価の解離の結果、Ultracellulartfilterg 濾液にはビールス粒子は全く含まれないと考えられる⁸⁾⁹⁾。

表 1 限外濾液のビールス感染力ならびに赤血球凝集価

資 料	発症日数	ニワトリ赤血球凝集価
原 液	平均 2.8 日	25 $\times$ 10
Membranefilter 9 号濾液	6.8 日	24 $\times$ 10
Ultra Cellular-filter g 濾液	(一)	22 $\times$ 10

C. 濃縮精製ビールス浮遊液.

前記 A の方法で型のごとく股動脈より放血致死させたエ・ビールス感染マウス肝を無菌的に取り出し、10% (W/V) 感染肝滅菌 T. 液乳剤を作り、表 2 により純ビールス浮遊上清を精製した。

なお超遠沈各段階の試料について、ビールス量(感染力)は試料 0.05 ml を健常マウス各 5 匹の後肢足趾皮下に接種して、腫張、壊死出現を目標とする発症日数、及びニワトリ赤血球凝集反応¹⁰⁾⁸⁾による血球凝集素価の検討から表 3 に示すように、最終試料 E は血球凝集素価の低下はみられるが、かなり不純物を除去しえた純粋液に近いビールス濃縮精製浮遊液といえる。

なお予備実験としてビールス感染マウス肝 T. 液乳剤を日立製作所製 40 P 型超遠に沈澱機で、各種遠沈条件でえられた試料のビール量(感染力)及び赤血球凝集素価は表 4 のとおりで超遠沈法による前記の精製法の妥当性を示している。

D. マウス肝 Phosphatide 抗原健常マウス、または健常家兎を前記の方法で脱血致死させ、下大静脈

表 2 濃縮精製ビールス浮遊液の精製

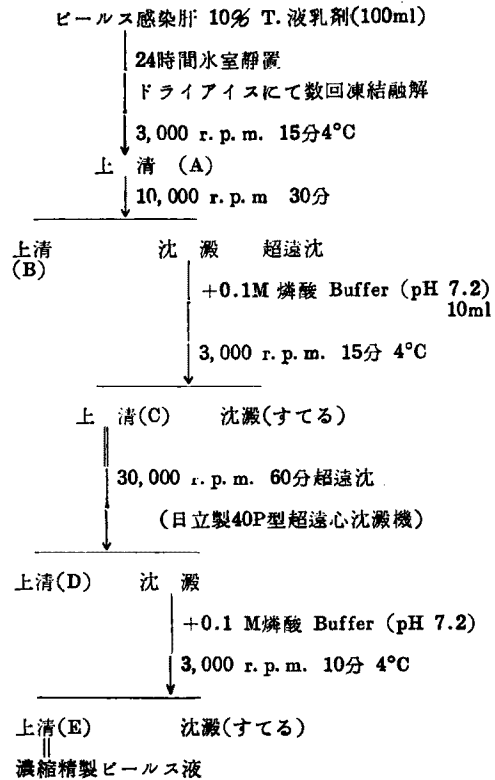


表 3 超遠沈によるビールス精製過程各資料のビールス量

資 料	発 症 日 数	LD ₅₀	ニワトリ赤血球凝集素価
A (上 清)	2.6 日	10 ^{-9.8}	25 $\times$ 10
B (上 清)	8.2 日	10 ^{-6.4}	23 $\times$ 10
C (沈澱再浮遊液)	3.8 日		22 $\times$ 10
D (上 清)	>10 日	10 ^{-2.1}	2 $\times$ 10
E (沈澱再浮遊液)	3.8 日		23 $\times$ 10

資料は表 2 参照

より生理食塩液で灌流して、充分血液を除去してから肝を取り出し、荒木氏法¹¹⁾に従って肝 Phosphatide を作製し、抗原液 1 ml 中に当該 Phosphatide 0.2 mg を含むように生理食塩液で調製した。

2) 抗体価測定法

A. 補体結合抗体価測定

抗原は前記 1) に従って調製したものをを用い、アメリカ陸軍軍医学校の方法¹²⁾によつて測定した。なお 1), C で精製した濃縮ビールス浮遊液抗原を用いる場合、試料が甚だ少量のため主として平板微

表4 超遠沈法によるエクトロメリア・ビールス濃縮精製

超 遠 沈 資 料	発症 日数	LD ₅₀	ニワトリ 赤 血 球 凝 集 素 価
3,000 r. p. m. 上清 30 分	2.6日	10 ^{-7.3}	2 ⁵ × 10
10,000 r. p. m. 上清 30 分	8.2日 沈澱 3.8日	10 ⁻⁵	2 ⁴ × 10 2 ² × 10
20,000 r. p. m. 上清 30 分	>10日 沈澱 5.8日	10 ^{-2.4} 10 ⁻⁵	2 × 10 2 ⁴ × 10
30,000 r. p. m. 上清 30 分	>10日 沈澱 4.2日	10 ⁻³	2 ² × 10 2 ³ × 10

量法¹²⁾¹³⁾に準じて補体結合抗体価を測定した。

B. 沈降抗体価測定

抗原は前記1)で調製したものをを用い、主として重層法による毛細ガラス管法¹²⁾によつて測定した。

C. 異種血球凝集価測定 (Paul-Bunnell 反応) 熊谷氏の Davidsohn 改良法¹⁴⁾によつて測定した。

3) 抗血清の採取

実験動物を約1昼夜絶食させ、型のごとく採取した。なお被検マウスから採取できる抗血清は極めて少量であるため、5匹の血清を集め pool し、5匹宛を1測定対象単位として観察した。

4. 赤血球凝集素価、および赤血球凝集抑制抗体価測定。

インフルエンザ・ビールスにおける赤血球凝集抑制試験の方法 (Salk 法)¹⁰⁾に従つた。

A. 赤血球凝集素価測定

ニワトリ赤血球浮遊液は、予め3.8%クエン酸ソーダを1/5量加えて、ニワトリ翼静脈から採取した血球を、生理食塩液で3回洗滌し10%浮遊液とし、Streptomycin 1mg/mlを加えて氷室に保存し、用に臨み40倍稀釈して用いた。透明に精製した被検ビールス材料を良質の生理食塩液 (pH7.0~8.0)で2倍段階稀釈し、その各0.5mlに、前記0.25%ニワトリ赤血球浮遊液0.5mlを加え、よく振盪混和して、37°C、2時間静置後、管底に生ずる赤血球の凝集沈降状態に基づいて、SalkのPattern法¹⁰⁾で判定した。

B. 赤血球凝集抑制抗体価測定

前法(4, A.)で予め3, 1), Aの方法で調製したビールス液の赤血球凝集価を測定し、56°C、30分加熱して非働化した被検血清を良質生理食塩液で5

倍に稀釈し、その0.25mlを2倍段階稀釈し、既に測定された凝集価の8倍濃厚なビールス液を各管に0.25ml宛加え(最終稀釈で各管2凝集単位を含む)、充分混和後、37°C、30分放置し、さらに0.25%ニワトリ赤血球浮遊液0.5ml宛加え、振盪混和、37°C、2時間静置後、前法同様にSalkのpattern法¹⁰⁾で判定し、完全凝集抑制の終末稀釈倍数で表わした。

5. 不完全抗体測定(直接Coombs試験)

A. Coombs試験血清の調製

直接Coombs試験法¹⁵⁾に従つた。即ち、健常マウス血清1.0mlを週2回宛、計8回、家兎耳静脈内に注射し、最終注射後7日経て、試験採血し、沈降反応で抗体価の充分上昇していることを確かめた後、全採血、血清分離し、56°C、30分間非働化する。次いで当該抗血清中に含まれている正常マウス赤血球に対する凝集素を除去するために、生理食塩液で10回洗滌した等量の正常マウス赤血球を加え、4°C及び37°Cで各1時間吸収を行つた後、当該正常赤血球を凝集しないことを確認してから、試験血清を氷室に保存し、用に臨み2倍稀釈して用いた。

B. 測定法

直接Coombs試験法¹⁵⁾¹⁶⁾に従つた。そのさい微生物の汚染等による非特異的凝集¹⁶⁾¹⁷⁾をさけるため、血清及び赤血球は前述のように新鮮なものを用い、採血及び試験血清の調製保存についても、充分無菌性に留意した。

6. 血清蛋白分画測定法

濾紙電気泳動法で、小林の方法¹⁸⁾に準じ、泳動条件、電流5mA・18cm、電圧1100V 160cm、pH 8.5のVeronal緩衝液で、5時間泳動後、濾紙を型のように乾燥、B.P.B.染色しParaffin固定後、Densitometerで測定した。

7. 形態学的観察

被検マウスの肝臓、または脾臓を10% Formalin 固定、もしくはCarnoy氏液固定後、型のとおりHematoxyein-Eosdn染色で鏡検観察し、さらに肝組織におけるRibo核酸(含有量)の変化を、Pyronin-Methyegreen染色(Unna-Pappenheim氏染色法)で検討した。

実 験 成 績

1. ビールス感染過程と各種抗原抗体系の動態

1. ビールス接種量と抗エ・ビールス補体結合抗体の血中出現状況。

既述のエ・ビールス (Hampstead 株, LD₅₀10^{-8.5}) を T. 液で、それぞれ 10⁸, 10⁷, 10⁶, 10⁵ に希釈した乳剤を抗原として健常マウスの腹腔内に 0.1 ml 接種して経時的にマウスの股動脈から型のとおり採取した抗血清につき 5 匹宛を 1 検査例とし、前述、A の方法で調製したエ・ビールス感染マウス肝抗原に対応する補体結合抗体価（以下抗ビールス補体結合抗体と略す）を測定すると、表 5 の成績を得た。この際ビールス接種量の多いエ・ビールス 10⁸ 希釈乳剤接種例では 5～7 日目頃に、10⁷ 接種例では 14 日目頃に殆んどすべて発症斃死するため以後の追究は不可能であつたが、接種量の少い 10⁶ 及び 10⁵ 接種例では、殆んど全例において立毛不活潑等の症状を認めず、比較的長く生存させることが可能であつた。

各接種例とも抗ビールス補体結合抗体は、いずれも早期に出現し、10¹⁰ 接種例では 3 病日頃から低値ながら出現し、6～10 病日頃 peak を示し、30 病日

以後も低値ではあるが、かなり長期間持続して認められた。

なお、LD₅₀ より濃い 10⁷ 接種例も、さらに一層大量の 10⁸ 接種例とも、ほぼ相似した抗体出現状態を示し、いずれも比較的早期に抗体価は多少上昇するが、斃死前日には著しく低下する。

2. ビールス接種量と同種（自己）抗肝抗体の血中出現状況。

前項同様各種希釈量のエ・ビールスを同様にマウス腹腔内に接種して、経時的に前項の抗ビールス補体結合抗体測定と平行して、健常マウス肝 T. 液抽出抗原に反応する補体結合抗体（これを後記の理由により肝自己抗体とみなす）の血中出現状況を観察したところ、表 6 に示すように、ビールス接種量が LD₅₀ より多い 10⁸, 及び 10⁷ 接種例の場合、それぞれ前者は 7 日で、後者は 14 日ですべて斃死したが、その生存期間中いずれも肝自己抗体の有意の出現は認められなかつた。

表 5 エクトロメリア・ビールス接種量と抗エクトロメリア・ビールス補体結合抗体の出現状況

ビールス接種量	病日	前	1	2	3	4	5	6	7	8	10	11	12
		被験例数	陽性例	平均抗体価	被験例数	陽性例	平均抗体価	被験例数	陽性例	平均抗体価	被験例数	陽性例	平均抗体価
10 ⁸ 希 釈 (0.1 ml)	被験例数	22 例	4	8	15	6	2						
	陽性例	2 例	0	2	7	6	2						
	平均抗体価	1: 0.18	0	0.5	1.4	4.7	4.0						
10 ⁷ 希 釈 (同 上)	被験例数	例	4	5	4	4	3		3	4	2		3
	陽性例	例	1	3	3	3	2		3	3	2		3
	平均抗体価	1: 0.5	1.6	2.0	3.0	4.0		6.7	5.0	4.0		3.3	
10 ⁶ 希 釈 (同 上)	被験例数	例	2	3	3		2		4		3		
	陽性例	例	0	1	3		2		4		3		
	平均抗体価	1: 0	1.0	4.0		4.0		6.1		5.3			
10 ⁵ 希 釈 (同 上)	被験例数	例	4	9	12	7	7	2	7	4	4	6	3
	陽性例	例	1	7	8	3	2	2	4	4	4	3	3
	平均抗体価	1: 0.25	1.7	2.0	2.0	3.0	6.0	5.2	4.5	9.0	4.5	3.3	
対 照	被験例数	例			2		3		3		2		
	陽性例	例			0		1		1		0		
	平均抗体価				1: 0		0.3		0.7		0		

それに反して、ビールス接種量の比越的少い 10^8 、及び 10^{10} 稀釈液接種の不顕性感染マウス結合抗体に比して遅れて、20病日以後に主に出現し、幾分低値ではあるが、比較的特異性を示す抗体価の持続を認める。

なおビールス感染後期に、放血致死させて血清を採取した一部マウスについて、その肝の一部をとり、抗原として II, 3, 1), A の方法で調製し、抗体価測定に供したが、同一抗血清について同種肝抗原と自己抗原を用いた場合に、両者の間に抗体価の差が認められなかつた。

3. エ・ビールス感染における可溶性感染マウス肝組織抗原に反応する抗体の出現状況。

エ・ビールス 10^{10} T. 液稀釈液 0.1 ml を腹腔内接種した感染マウスを経時的に斃し、前記(1)及び(2)の検査例の一部について、同時に限外濾過法でエ・ビールス体を全く除去した可溶性感染肝組織抗原と反応する補体結合抗体の出現状況を検討すると表 7

のとおりで、当該抗体の推移は、初期にはほぼ前記の抗ビールス補体結合抗体と、20病日以後の後期には肝自己抗体のそれとほぼ軌を一にしているようである。

4. 濃縮精製ビールス浮遊液に対する抗体の出現状況

エ・ビールス 10^{10} 稀釈乳剤接種マウスの血中の純粋ビールス自体に対する抗体の出現状況を超速沈法 (II, 3, 1), 9) で濃縮精製したビールス抗原による補体結合反応で検討すると表 8 のとおりで、この抗体は感染の早期、3 病日頃から出現し、8 病日頃を最高とし、14 病日以後は殆んど認められなかつたようである。

5. 肝 Phosphatid 抗原に対する抗体の出現状況。

エ・ビールス 10^{10} 稀釈液接種の感染マウス血中に出現する健常マウス肝及び家兎肝 Phosphatid 抗原に対する補体結合抗体を検討すると表 9 のように感染の後期に低値の出現をみる。即ち、肝自己抗体

13	14	17	20	21	22	23	24	25	28	30	32	37	41	50 病日
3	3													
2	3													
3.0	3.3													
2	2	4	4			2	2	2	4	2.5	2		2	2
2	2	3	4			1	2	1	3	2	1		1	1
4.0	3.0	2.5	3.0			2.0	3.0	1.0	4.0	3.0	1.0		2.0	2.0
	8	4	4	3	4		4		6	4	3	3	3	2
	5	0	2	0	2		2		2	3	2	2	2	1
	2.3	0	1.0	0	1.5		1.5		0.5	2.8	2.0	2.7	2.7	4.0
	3			3					1					1
	1			1					0					0
	0.3			0.3					0					0

表6 エクトロメリア・ビールス接種量と肝自己抗体の出現状況

ビールス接種量	病日	前	1	2	3	4	5	7	10	11	12
10 ⁸ 稀 釈 (0.1 ml 接種)	被 験 例	4	3	4	9	4	2	例			
	陽 性 例	0	0	1	3	2	0	例			
	平 均 価 抗 体 価	1: 0	0	0.5	0.78	1.0	0				
10 ⁷ 稀 釈 (同 上)	被 験 例		4	4	4	3	3	4	4		4
	陽 性 例	1:	1	1	0	1	0	2	2		2
	平 均 価 抗 体 価	1: 0.5	0.5	0.5	0	1.3	0	1.0	0.75		1.0
10 ⁶ 稀 釈 (同 上)	被 験 例		3	3	2		4	4	4		3
	陽 性 例	1:	0	1	0		1	2	2		2
	平 均 価 抗 体 価	1: 0	0.3	0			0.5	1.0	0.7		1.0
10 ¹⁰ 稀 釈 (同 上)	被 験 例		4	7	8	5	8	7	3		6
	陽 性 例		0	1	3	1	2	1	2		3
	平 均 価 抗 体 価	1: 0	0.1	1.0	1.6	0.3	0.3	1.3	3.0		
対 照	被 験 例				2		3	2	2		
	陽 性 例				0		1	0	0		
	平 均 価 抗 体 価				1: 0		0.7	0	0		

表7 溶性感染マウス肝組織抗原に対する抗体の出現状況
(限外濾過法により精製した抗原使用)

抗体	病日	前	1	2	3	5	8	12	13	14	17	21	23	25	30	37	41	50
		病日																
抗 体 出現状況		(-)	(-)	1:2	1:2	1:2	1:2	1:2	1:2	1:1	1:1	1:1	1:1	1:2	1:2	1:2	1:2	1:4
		(-)	(-)	(-)	1:4	1:2	1:2	1:4	1:4	1:2	(-)	1:2	1:4	1:4	1:8		1:4	(-)
				(-)	1:2	1:4	1:8		1:2	(-)	1:4							
平 均 価 抗 体 価	1:	0	0	1.0	2.0	2.5	2.7	3.5	3.0	1.8	0.3	2.3	3.0	3.0	5.0	2.0	3.0	2.0

の抗体価の上昇期にはほぼ一致している。抗原の種属差異による抗体の検出状況の差は認められないが、幾分同種のマウス肝 Phosphatid に対する抗体価が異種の家兎肝に対するそれよりも比較的高い傾向がみられた。

6) 異種肝諸種抗原に対する抗体の出現について。

エ・ビールス 10¹⁰ 稀釈液を前記同様接種した感染マウス血中の家兎肝及び人肝生理食塩液可溶蛋白質抗原、さらに人肝磷脂質、人肝多糖類抗原に対する各補体結合抗体について一部検討した。これらは極く少数例の観察にすぎなかったが、第2, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 27, 30病日ともすべて陰性で、ビール

[illegible]

表12 赤血球凝集素および赤血球凝集抑制抗体の推移

出現状況	病日 接種ビールス	前	1	2	3	4	6	7	11	14	17	21	27	30	41	50
		病日														
ニワトリ赤血球凝集価	10 ⁸ 稀釈 (0.1 ml)	(-)	1:20	80	40	80	40*									
			1:40	160	80	160	40*									
	(同 上)	平均	1:30	133	93	133	80									
		0														
ニワトリ赤血球凝集抑制抗体価	10 ¹⁰ 稀釈 (同 上)		1:20	40	80	40	40	20	(-)	(-)	(-)	(+)	20	(-)	(-)	(-)
		(-)	(-)	80	20	(-)	(-)									
	(同 上)	平均	1:10	60	50	20	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0
		0														
ニワトリ赤血球凝集抑制抗体価	10 ⁸ 稀釈 (同 上)	(-)	(-)	(-)	1:40	80	20*									
		(-)	(-)	(-)	1:40	160	(-)*									
	(同 上)	平均			53	80	7									
		0	0	0												
ニワトリ赤血球凝集抑制抗体価	10 ¹⁰ 稀釈 (同 上)	(-)	(-)	(-)	1:40	80	320	640	1280	320	80	40	(40)	(-)	(-)	40
				(-)	(-)	40	640	640	640		160					
	(同 上)	平均			20	60	480	640	960	320	80	100	40	0	0	40
		0	0	0												

注: *印斃死直前例 5匹を1検査例とす

表13 直接 Coombs 試験場性抗体の出現状況

病日 接種量	前	1	2	3	4	5	6	7	11	12	14	17	21	24	27	35	41
	病日																
10 ¹⁰ 稀釈 (0.1 ml)	(-)	(-)	(±)	(+)*	(-)	(+)	(-)	(+)*	(+)	(+)	(-)	(±)*	(-)	(-)	(-)	(+)*	(-)
		(-)		(+)	(-)	(+)		(+)	(+)			(-)				(-)	
				(+)				(+)	(±)			(-)				(-)	
				(+)				(+)				(-)				(-)	
10 ⁸ 稀釈 (同 上)				(+)*	(-)	(+)	(-)										
	(-)	(-)	(±)	(±)(-)													
				(±)(-)													

注 被検赤血球は5匹を集めたものであるが、*は各1匹について測定。

補体結合抗体、及びニワトリ H. A. I. の出現状況に酷似しているようであるが、後期の肝自己抗体出現時期にはすべて陰性であった。一方ビールスの比較的多量接種では、早期にビールス H. A. 価の高値なのにかかわらず本抗体陽性例は比較的少かった。

2. ビールス感染と血清蛋白像の変化

エ・ビールス少量(10¹⁰稀釈)接種し、長く生存させた感染マウスの感染経過と共に血清蛋白像の変化を前述(II, 6)の濾紙電気泳動法により検討すると表14のとおりで、採取血清量が非常に少いため総蛋白量は測定できなかったが、蛋白比(A/G比)は感染の初期から Albumin の減少に従って低下し、14病日頃からほぼ正常に復す。また各分画の百分率

表14 ビールス感染と血清蛋白像の変化

病日			前 (平均值)	1	2	3	4	7	10	14	21	30	35
血清蛋白像			病日										
A	G	比	0.95~1.22 (1.06)	0.55	0.52	0.46	0.62	0.57	0.85	1.41	1.04	0.96	1.07
血清蛋白 分画	Albumin	49.6~55.4 (52.4)%	-17.1 %	-18.1	-21.1	-14.0	-16.2	-6.6	+6.1	-1.3	-3.4	-0.6	
	Globulin (総量)	44.6~50.4 (47.6)%	+17.1 %	+18.1	+21.1	+14.0	+16.2	+6.6	-6.1	+1.3	+3.4	+0.6	
	α -Glob.	15.9~17.6 (19.6)%	+9.1 %	+5.9	+9.9	-2.9	+1.0	-0.7	-4.9	-2.5	-2.3	-3.3	
	β -Glob.	19.9~21.2 (20.8)%	+4.3 %	+4.5	+4.3	+14.9	+3.0	+1.8	+0.7	-2.2	+0.4	+0.7	
	γ -Glob.	9.1~12.4 (10.6)%	+3.0	+5.0	+6.2	+1.3	+11.5	+4.4	-2.6	+5.3	± 4.6	+2.5	

註. 血清蛋白分画は健常マウスの平均値に対する%の増減量で表す。

の推移をみると Albumin は初期からかなり減少し、14病日頃よりほぼ正常に復す。それに反して Globulin は初期に相対的に上昇し、この時期には、Globulin の各分画とも上昇するが、殊に1~3日頃は肝組織崩壊に基因するとみられる非特異的蛋白成分の多い α -Globulin の増加が著明で、4病日頃に一過性に β -Globulin が増多し、次いで抗ビールス補体結合抗体、H. A. I., 直接 Coombs 試験陽性抗体等の peak を示す7病日頃に、これら特異的抗血清の増多を反映して、 γ -Globulin が著しく増大する。続いて14病日頃一過性の γ -Globulin 低下はあるが、肝自己抗体の比較的出現する21病日以後は、Albumin 及び α -Globulin の軽度低下に比し、 γ -Globulin が再び若干の上昇を示した。

3. 感染と自己免疫現象における肝脾病理組織像の変化。

主としてビールス接種量の少ない 10^{10} 希釈液 0.1ml 腹腔内接種例を経時的に斃し、その肝及び脾の病理組織学的変化を Hematoxylin-Eosin 染色法で観察した。また一部ビールス量の多い 10^8 希釈液接種例についても若干の検討を加えた。

これらビールス感染マウスの肝脾の組織像変化は表15, 16に示すとおりで、生存しうる比較的少量接種例で、ビールス親和性臓器である肝の変化は表15のように、3病日頃から星細胞 (Kupffer 氏細胞) の肥大膨化と共に実質細胞核及び核小体の肥大、さらには小葉中心帯附近の一部肝実質細胞体内に、一見 Azur 顆粒を思わせる 0.5μ 程度の濃紫紅色の顆粒、即ちエ・ビールスの基本小体²¹⁾²²⁾ を認め

る。4病日には肝小葉中心帯から中間帯にかけて瀰漫性に Necrobiosis, その周辺への円形細血浸潤を認め、肝細胞の核融解、脂肪変性、空胞化、さらには Mallory 小体の出現もみられ、星細胞膨化、肥大貪喰亢進像を強く、中間帯の比較的障害の少ない実質細胞にビールス基本小体を認めるが、封入体 (Marchal 小体)²¹⁾ は存在しなかつた。5病日頃から比較的瀰漫性壊死群は相互に融合の傾向を示し、壊死果附近に単球及び若干の好中球浸潤が認められ、辺縁部には巨大核肝細胞等の代償性肥大像をみ、類洞拡張、漿液滲出、血管壁の膨化粗化等の血管系変化も現われ、マウスの解剖学的特質として Portal tract の狭小さから、Glisson 氏鞘以下 (グ鞘と略す) の変化は殆んど認め難いが、若干グ鞘結合組織の Fibrinoid 膨化を認めた。6病日には中心帯に多くみられた壊死果は次第に凝縮小型化し、局所壊死果を形成し、その周囲には単球反応著明で、小葉内にも単球、淋巴球、好中球等の浸潤、血管壁の膨化等の変化も強いが、実質細胞内に基本小体は殆んど認められず、ちょうどこの時期は抗ビールス補体結合抗体、H. A. I. 等の感染に基因する抗体が出現する時期に相当している。その後6~8病日頃には細胞変性は殆んどみられず、中心帯附近に数個の小局所壊死果とその周囲の円形細胞浸潤及び星細胞肥大増殖像を認めるが、実質細胞内にエ・ビールスの封入体、又は基本小体は存在しなかつた。12病日には、さきの局所壊死果は単球反応及び線維芽細胞の出現等で分画化され、14病日頃には当該残遺壊死果は結核化し、肝自己抗体の血中に出現する21病日頃には

表15 10¹⁰ 稀釈ビールス乳剤 0.1ml 腹腔内接種マウスの肝, 脾組織像

組織像	病 日		2	3	4	5	6	8	12	14	21	27	30	37
	病 日		2	3	4	5	6	8	12	14	21	27	30	37
肝 組 織 像	ビ ル ス 基 本 小 体		— ?	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	変 性		—	± 脂肪	± (±)	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	壊 死	中心 血縁 帯	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	再 生		—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	核 肥 大		—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	核 融 解		—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	漿 液 性 炎		—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	星 細胞 反 応		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	細胞浸潤	小 葉	(—)	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	グ 精		(—)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	血管系変化		(—)	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	毛細管充血		(—)	(±)	(±)	(+)	(±)	(±)	—	—	—	—	—	—
脾 組 織 像	グ 膨化浮腫		—	—	±	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	胆 道 系		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	備 考				類壊死	〃	限局 壊死	〃	分画化	結核化	〃	〃	後続節孫	〃
	(出現例数)				4/5	4/5	4/5	3/5	3/5	3/5	3/5	2/5	3/5	2/5
	反 応		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	濾 中 所 成		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	増 殖		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	萎 縮		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	変性壊死		—	—	局所 +	局所 +	+	+	+	+	+	+	+	+
	細網細胞		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	単 核 球		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	充 血		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
備 考	洞 被 腫 張		—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
	スタンプ 標本 (肝, 脾)		(—)	(±)	(+)	(+)	(—)	(±)	(—)	(+)	(+)	(+)	(+)	(—)

結核化は強く、30~37病日には完全に痕跡も残さず治癒するものもあるが、一部残遺したものは完全に分画化、後結核様化する。その間、星細胞反応の亢進、核肥大、二核相、核染色素増多、核小体肥大等

の実質細胞機能の賦活化がみられるが、血管系には、さした変化も認められなかつた。なお若干例に14病日以後は星細胞反応以外、何等所見がみられないものもあつた。

表16 10³稀釈ヒールス乳剤 0.1 ml 腹腔内接種マウスの肝、脾組織像

病 日	肝 組 織 像									
	実 質 組 織 像					脾 組 織 像				
	変 性	壊 死	再 生	核 肥 大	核 融 解	漿 液 性 炎	星 形 細 胞 反 応	小 葉	細胞浸潤	血管系変化
組 織 像	ヒ 基	本 体	死 辺 縁 帯	毛 細 管 充 血	毛 細 管 充 血	膨 化 浮 腫	グ 膠	胆 道 系	濾 胞	濾 胞
備 考	洞 皮 腫 内 張	充 血	単 核 球	細 網 細 胞	細 網 細 胞	変 性 壊 死	萎 縮	増 殖	反 中 核 形 成 応	反 中 核 形 成 応
2 病 日	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
3	(+)	+	(+)	+	+	+	-	-	(+)	(+)
4	(+)	(+)	(+)	+	+	(+)	+	-	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
6	(+)	(+)	+	+	+	+	+	-	+	+

立毛不活発
(赤色腫張)
同上立毛不活発
(乳白腫張)
同上立毛不活発
(乳白腫張)
同上立毛不活発
(乳白腫張)
同上立毛不活発
(乳白腫張)
同上立毛不活発
(乳白腫張)
同上立毛不活発
(乳白腫張)
同上立毛不活発
(乳白腫張)
同上立毛不活発
(乳白腫張)
同上

また肝スタンプ標本においても、4～5病日に好中球、単球増多と共に、形質細胞、さらに21～27病日にも形質細胞の比較的多増が認められた。

脾組織所見では、ほぼ肝の組織像と平行して4病日頃に濾胞周囲に局所壊死、細網細胞の増殖、脾髓内好中球及び単球増加を、6病日には局所壊死部に単球の果状浸潤、過形成、細網細胞の著明な増殖腫張と、いわゆる感染による Bekaempfungszustand を呈しているが、14病日頃には脾濾胞の萎縮、網内系細胞反応の幾分の亢進、脾洞内被の腫張を認める程度で、この状態は21病日も同様であるが、この頃より一部髓索動脈周囲に大淋巴球及び形質細胞の増多が認められ、また脾スタンプ標本でも同様に形質細胞の比較的多増をみた。

他方、エ・ビールス接種量の多い(10³ 稀釈液)場合の肝脾病理組織学的所見は表16のとおりで、3病日には既に中心静脈附近の肝実質細胞内にビールス基本小体の集簇を認め、4病日には中心部に瀰漫性 Necrobiosis とその周辺の一見正常な実質細胞胞体内に好塩基性基質中に基本小体を含む封入体の形成を一部認め、星細胞の膨化増殖、血管壁の粗化、充血等の血管系変化がみられ、5病日には実質細胞の空胞変性、壊固壊死果の拡大、著しい星細胞反応、単球反応、単球反応、類同の漿液性炎、6病日には壊死病変は直線的に進行し小葉全体に及び、アレギー性壊死に類似した線維素の析出、好酸性細胞出現を伴う広範な好酸性凝固壊死、肝策の乱れ、血管系の著しい変化及び滲出性炎を来し、遂に斃死に至る。極期の所見は人の流行性肝炎極期の像に酷似し²⁰⁾、一面 Arthus 性炎症にも似た広義のアレギー性変化を示す。そしてこの間、基本小体は軽度の核濃縮のみられぬ実質細胞に殆んど毎常認められたが、好酸性壊死の

拡大期には認められなかった。

脾病理組織像においても、肝組織病変とはほぼ平行して、早期（3病日）に濾胞周囲の細胞壊死、網内系細胞反応の亢進、次いで濾胞の一部に凝固壊死巣、単球及び形質細胞の巣状浸潤、髓索の網内系細胞反応及び間葉系細胞反応の亢進を来し、病変は強く進行して、斃死する。

またこの場合の肝・脾のスタンプ標本において、多核好中球、細網細胞及び単球の増多はみられるが、形質細胞増多は殆んど認め難かつた。

さらにエ・ビールス感染による抗体産生と肝組織における RNA (Ribose nucleic acid) 含量及び DNA (Desoxyribose nucleic acid) 重合度の変化を Pyronin-Methylgreen 染色法で検討してみると、ビールス接種量が少い (10^{10} 稀釈液) 場合、感染の初期（2～3病日頃）には実質細胞変性も軽微で、壊死は認められない。この時期では Pyronin 及び Methylgreen 好染性とも変化は認められず、6病日頃には分画化された壊死部の実質細胞に Pyronin 好染性顆粒の消失及び核における Methylgreen 好染性の幾分低下を認めるが、比較的変性等の変化の少い実質細胞及び星細胞では Pyronin 好染性の若干の増大がうかがわれる。14病日頃は少数の分画化壊死巣細胞の Pyronin 好染性の外少の低下の他、何等変化は認められず、また肝自己抗体の血中に出現しはじめる21病日頃にも、実質細胞において、特に Pyronin 好染性顆粒による RNA 含有量及び Methylgreen による核における DNA の重合度の変化は認められなかった。

総括並びに考察

エ・ビールス接種による感染過程は、既に Fenner²⁴⁾ 等の報告があるが、概してビールス自体一つの蛋白体であるため、単なるビールスによる感染過程も Host-Parasite Relationship の観点からみる場合、単純なビールス自体の増殖、宿主細胞の壊死、ないしは治癒という単なる形態的、物理化学的解釈だけではすまされない複雑な生体の反応形式が、感染のあらゆる過程において相互にからみ合つて進行していることは否めない³⁵⁾³⁶⁾³⁸⁾。

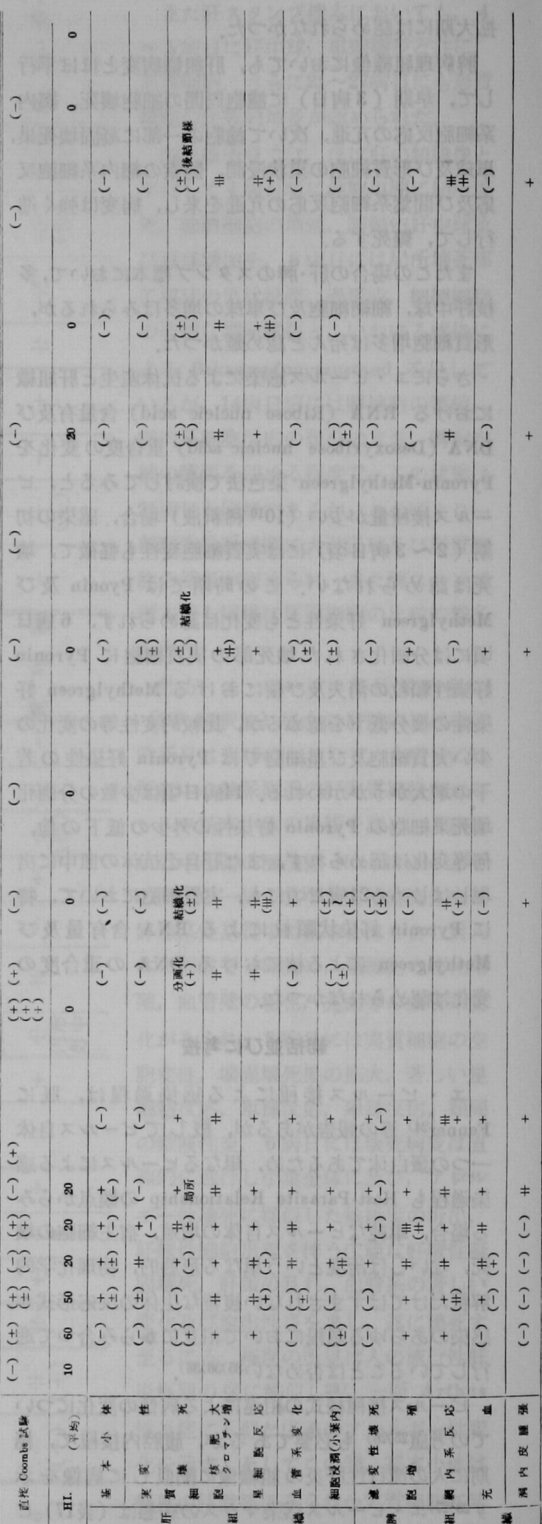
ビールス接種様式の相違による病像の変化についての考慮²⁵⁾²⁶⁾ も必要であるが、腹腔内接種で、極期に人の流行性肝炎の組織像に酷似しに病像を示す²³⁾²⁷⁾ エ・ビールス感染マウスの病態は（表17）ビールス接種量が LD₅₀ よりも多い場合、極く初期か

ら肝細胞胞体内にビールス基本小体²¹⁾²²⁾ を認め、一部封入体²¹⁾ も形成され、ビールスの H. A. (血球凝集素)¹⁹⁾ が血中に上昇する。次いでビールス感染に基因する抗ビールス補体結合抗体及び H. A. I. (赤血球凝集抑制抗体) が血中に出現するが、直接 Coombs 試験陽性抗体（不完全抗体）は殆んど認められない。そして抗体の上昇とはほぼ一致して、肝組織では類洞拡張、漿液滲出、血管壁の膨化粗化、星細胞反応の亢進及びアレルギー性壊死に酷似する広範な好酸性凝固壊死を招来する。脾組織においても濾胞周囲の凝固壊死、単球反応、網内系細胞反応の亢進像と肝・脾とも直線的に進行する幾分 Anergic non specific に近い Arthus 性炎症酷似の変化像を呈し、7～14病日ですべて斃死するに至る。

このようにビールス接種量が多い場合、感染過程は全く直線的に進行し、遂に発症斃死に直進するが、その際の経過はビールス性非特異性炎症過程のみでなく、生体反応としての抗原抗体反応の関与する感染アレルギー過程の成立とそれが疾病過程に及ぼす影響は無視できないようである。ただこの場合、ビールスによる肝組織の変性壊死等、組織の変調修飾は認められたが肝自己抗体の出現は殆んどみられなかった。

一方、ビールス接種量が LD₅₀ よりも比較的少ない場合では不顕性感染の状態を示し、感染初期より肝実質細胞体内に基本小体を認めるが、封入体形成はなく、一過性に比較的早く消失した。またビールスの H. A. もそれとほぼ軌を一にして血中にみられるが、抗ビールス補体結合抗体及び H. A. I. は、H. A. 等のビールス成分の血中出现にやや遅れて現われ、6～10病日に Peak を示す。これと平行して3病日頃からみられる肝実質細胞の変性壊死は、大多数の例で6病日頃から限局化、分画化し遂には結核化され増殖炎に類似した hyperergic なアレルギー病態を示す。

しかし感染初期にはビールス感染に基因する諸種完全抗体と共に、不完全抗体（直接 Coombs 試験陽性抗体）も早期に出現し、後期には速く消失する。14～20病日頃には、こうして肝においては星細胞反応のみを残し、局所壊死巣は明確に結核化されつつ後結節様に変化するが、痕跡を残さず治癒する。脾もまた網内系細胞反応のみ著しい。感染後期（21病日以後）になると血中にいわゆる肝自己抗体をかなり持続的に認める。しかしビールス感染に直接基因する特異抗体は殆んど認められないが、ビールス体



を含まない可溶性感染マウス肝組織に対する抗体、いわゆるビールス感染随伴物質⁵⁷⁾等、さらには家兎肝 Phosphatide 抗原と一部交叉反応を認めるようになる。

この間における血清蛋白像の推移も、血中抗体の動態とかなり密接に関連し、ビールス感染による肝障害の結果、肝臓の Albumin 生成能が障害され、初期の Albumin 減少、肝病変の進行による非特異的肝崩壊物を主とする α -Globulin の増量、次いで感染に基因する抗体出現の初期に一過性の β -Globulin 増多を認め、抗体の血中最高出現時に一致して γ -Globulin 増大を来す。その後当該 γ -Globulin は一時正常に復すが、さらに感染後期の肝自己抗体出現時に再び軽度の増量をみとめる。このように血清蛋白像もマウス血清の特性、肝障害産物の血清分層への介入、分層絶対量の推移及び免疫電気泳動学的検討等、諸種のなお考究しなければならない問題を内包するとしても、 γ -Globulin と抗体との相関性、また肝自己抗体をも含めて臓器抗体との関連性は認めなければならない。この点長島²⁸⁾⁷⁾、矢部²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾等の臨床例及び動物実験例における成績と一致する。

感染における組織アレルギーについては、1902年、Longcope, W. T.³²⁾がチフス、パラチフスの肝にみられる Kupffer 白星細胞の限局性増殖像(チフス結節)を肝のアレルギー性病変と認めて以来、感染及び実験的感作における臓器アレルギーの組織変化について多くの報告³³⁾³⁴⁾がみられるが、本来各種抗原によるアレルギーにそれぞれ特異的な実質臓器の組織表現は認められないという。ところで著者の行つたエ・ビールス感染に基因して生ずる臓器アレルギーの組織表現は、ビールス接種量が比較的多量(10^8 希釈液 0.1 ml 接種)の場合の肝脾組織所見は、血管病変よりも実質細胞の好酸性融解壊死、線維素析出、好酸球出現、間葉系細胞の浸潤が著明な、いわゆる Arthus 現象類似の滲出性炎を主体としており、ビールス接種量の少い(10^{20} 希釈液 0.1 ml)場合には、比較的穏やかに経過した Hyperergy 病像を示し、感染初期にみられる血管系の変化、Athus 現象類似の実質細胞の変性、融解壊死果(Cytolytic stage)は間葉系細胞の周囲浸潤により限局化、分画化され、肉芽腫様、後結節様化してゆく増殖炎の組織反応形式をとる。そしてこの時期に血中抗体存在の確認と共に、明らかに岡林³⁵⁾らのいう遷延性アレルギー性組織反応像が顕著となつて

いる。

しかもビールス量と抗体との相対的な量関係によつて起るアレルギー反応においても、細菌数とアレルギー反応との間にみられる関係、即ち菌の多い場合、非特異性炎症を生じ、細菌が殺されて少くなる程、アレルギー性局所反応—結核腫様構造—を呈するとする Jadassohn-Lewandowsky の法則は、宮崎等³⁷⁾が Riftvalley fever virus の少量接種実験で腫瘍性増殖を思わす肥大增殖期と肝小葉内のチフス結節様病変を認めた実験成績からも首肯されるが、著者のエ・ビールス接種実験の場合もこの法則は当てはまるようである。

肝における RNA 含有量及び DNA 重合度の変化を Pyronin 及び Methylgreen 好染性の変化び追求し視範囲では、Pyronin 好染性は RNA のみに特異的でなく、酸性蛋白をも可染するが、壊死部に両者の好染性の低下を認めた他、有意変化はみられなかつた。Fagraeus³⁸⁾、Harris⁴⁰⁾、Ehrlich⁴¹⁾等は、人の肝疾患、敗血症及び家兎の肝自己抗体産生時期に肥大した星細胞胞体にあいて、蛋白合成、殊に抗体蛋白生成をうかがわす RNA 増加と平行して胞体の塩基好性も増強することを指摘しているが、著者のエ・ビールス接種例では星細胞反応の亢進はいずれにもみられるが、抗体出現と胞体の塩基好性増強との相関性は余り明確ではなかつた。しかし Szanto、及び Popper⁴²⁾等の見解に従えば、核小体の肥大及び塩基好性の増強は蛋白生成準備状態を示すとのことであるから、感染に基因する諸抗体及び肝自己抗体の血中出現にやや先立つ3病日と12~21病日頃、及び肝自己抗体のみられぬ30病日頃に肝実質細胞並びに星細胞の核肥大及び核小体肥大の傾向がみられたことから、一応抗体産生と蛋白合成、ことに核酸生成との間に関係があるように推定される。

ビールス感染過程における諸種抗体の動態について、さらに詳細に考究すると、①ビールス量の多寡にかかわるビールス自体、及びその H. A. に対する抗体(抗ビールス補体結合抗体、H. A. I. 等)は感染初期から血中かなり出現するが、ビールス量が多凍いほど、その産生ないし血中出現状況は悪いようである。②可溶性感染肝組織に対する(自己)臓器抗体はやはり接種ビールス量が少ない場合、感染初期に産生され、血中に出現し、かなり後まで持続する。しかも初期はビールスに対する抗体の動態と後期には正常肝組織に対する抗体の動態と酷似

する。③、正常肝組織に対する同種（自己）臓器抗体は接種ビールス量が少く、ビールスが封入体を形成することなく基本小体として極く初期に一過性に認められ、著しい全身の間葉組織の異常反応と実質細胞局所壊果の結核化、増殖性分画性炎症の hyperergic な過程をとる場合に、かなり遅れて感染後期に血中に出現する。④、異好性抗体（Paul-Bunnell 反応）は比較的感染の初期に、抗肝 Phosphatid 抗体は感染後期に血中に認められる。⑤、直接 Coombs 試験陽性抗体（不完全抗体）はビールス接種量が少い場合のみ、感染初期に血中に認められ、H. A. の血中出現と平行し、ビールスに対する抗体と相似した動態を示すようである。

以上の点より臓器自己抗体の産生機序を要約するならば、Eaton²⁾、Vorlaender⁴⁾等の諸家⁵⁾⁴³⁾⁴⁴⁾が臨床的にも明らかにし、さらに教室長島⁴⁵⁾⁷⁾、和泉⁴⁶⁾が指摘するようにビールス感染に際して感染（肝）組織は変性・壊死等のかなり幅広い変調過程をへて生体内で異類性を得、抗原性を獲得し、二次的に臓器自己抗体が産生されることは明確である。

また注目すべきは、感染組織可溶成分に対する臓器抗体は早期より血中に出現するのに対して、正常（肝）組織に対する臓器自己抗体はかなり遅れて出現するが、このことは、上記②及び③の所見、さらには極めて軽微な物理的人工操作を加えたに過ぎない正常自己組織が自己体内で明らかに抗原性を獲得することを無菌的操作による高張食塩水の肝内注入実験で明らかにしている教室和泉の報告⁴⁶⁾とも考え合せると、感染過程における感染組織の抗原物質の量的差の影響も全く無視するわけにはゆかないが、むしろ主として異類性の質的差異が、両抗体の産生の遅速を支配しているようである。

またビールス接種量の多寡、即ち感染による組織病変の軽重にかかわらずビールス自体及びその成分に対する抗ビールス補体結合抗体、H. A. I. 等は早期に産生されるのに対して、正常組織に対する臓器自己抗体は、ビールス接種量が多く、感染による組織病変も重篤で、病勢が直線的に進行し早期に斃死する場合の血中には認められないことはまた興味深い知見である。Havens, W. P. Jr. らは臓器抗体を認めない肝硬変症患者においても、ジフテリア毒素及びチフスワクチンに対する抗体は正常人におけると同様に生成されることから、平山⁴⁷⁾らは、これは肝細胞における臓器抗原消失か、臓器抗原生成の低下によると推定しているが、ビールス接種量が

多い場合、感染に基因する抗体は産生されるにもかかわらず、臓器自己抗体は血中に認めないことは、肝組織病変の急激な直線的進行が、実質細胞の臓器抗原を消失するが、抗原の生成を低下させることも原因の1つと考えられるが、それらの機作の明確でない現在、むしろビールス病変の急激な進展は肝組織の変性壊死による変調機転も急速かつ顕著であり、当然異類性（抗体産生組織を刺激する）も強度であることは肝癌細胞⁴⁸⁾等、一二の例外を除いて、諸家の研究により明確である点から、ただ単に抗原性の問題のみでは承服しえない複雑な要素がからむようである。

更に感染症における不完全抗体については、Morgan & Schutze⁴⁹⁾ (1946) が態染ヒト血清について直接 Coombs 試験を用いて、赤痢菌及びチフス菌抗原に対する非凝集抗体を普通凝集反応よりも鋭敏に証明して以来、ブルセラ症⁵⁰⁾、Q熱⁵¹⁾、梅毒等⁵²⁾について報告がみられるが、進藤⁵³⁾、細田⁵⁴⁾等は結核菌系において系統的考察を行い、不完全抗体が細胞融解反応に主要な役割を演ずることを明らかにしている。こうして細胞融解現象 (Cytolysis, Histolysis) をアレルギーの本質的現象とする見解が主流を占める今日では、不完全抗体はアレルギー現象に重要な意義を有するものであることがうかがわれる。

人の流行性肝炎における直接 Coombs 試験で検出される不完全抗体は教室氏家²⁰⁾によると、完全抗体（肝自己抗体）の動態とはほぼ平行関係を示し、第2病週にはじまり1～2病月を peak とし、さらに第6病月以後の慢性期にも高率に出現し、さらに肝自己抗体よりも先立つて出現することが多いことを明らかにしている。また諸種抗原態作時、及び感染症において不完全抗体と完全抗体と出現状況がほぼ平行して共存することを示す報告も多い。

著者のエ・ビールス少量接種感染の場合の当該不完全抗体の産生状況は Rh 因子についての免疫血清学的領域での状況⁵⁵⁾、又は異種蛋白による遷延態作の持続をその産生の主条件とみる山本⁵⁶⁾の見解とも趣をやや異にしているようである。

エ・ビールス感染の初期にみられる直接 Coombs 試験の高陽性率は、当然 Coombs 試験の原理から考えて、試験血清には抗 γ -Globulin 抗体と抗非 γ -Globulin 抗体の両者を有する¹⁵⁾ため、赤血球表面への非特異的 γ -Globulin の附着被覆によつてもうかがわれる。従つて直接 Coombs 試験陽性反応は本

来の特異的 γ -Globulin 型不完全抗体のほか、ビールス感染による全身性の間葉組織反応及び臓器障害に起因する血清蛋白異常状態 (Dysproteinemia) の影響、さらに第3編において詳述するようにビールス自体の吸着等の直接作用による赤血球膜面の変化も、大きく関与していると考えられる。

結 論

エ・ビールスによる実験的ビールス性肝炎における抗原抗体反応系の動態を検討し、次の結果がえられた。

1) 腹腔内接種内接種のエ・ビールスは、接種量の多少にかかわらず3病日には肝実質細胞胞体内に基本小体として認められるが、接種量の多い場合のみ、次いで、封入体形成を一部に認めた血中ニワトリ H. A. (赤血球凝集素) の動態は基本小体及び封入体の出現状況と平行する。

2) ビールス接種量の多寡にかかわらず、ビールス感染に直接基因する抗ビールス補体結合抗体、H. A. I. (赤血球凝集抑制抗体) はいずれも感染早期に出現し、6~10病日頃に最高を示した。しかしビールス接種量が多い場合、当該血中抗体価は幾分低値を示した。

3) 同種 (自己) 抗肝抗体はビールス量の比較的少く、全身の著しい間葉組織異常反応と肝実質細胞限局性壊死群の結核化、増殖性分画性炎症の hyperergic な過程をとる場合に、感染後期 (21病日以後) に低値ながら血中に持続的出現をみた。なお同時に可溶性感染肝組織成分、並びに一部肝 Phosphatid 抗原 (マウス、家兎) 等と交叉反応も認められた。

4) 可溶性感染肝組織成分 (いわゆる感染随伴物質) に対する臓器抗体は、ビールス少量接種の場合、感染早期より産生され、かなり後まで持続した。しかも初期にはビールスに対する抗体の動態と後酷似する。

異好性抗体 (Paul-Bunnell 反応) は比較的感染の

初期に、抗肝 Phosphatid 抗体は後期に血中に認めなかった。

5) 感染過程における血清蛋白像の動態は、初期には Albumin 生成能低下と非特異性肝崩壊成分 Globulin の血中介入の影響もかなり大きかったが γ -Globulin の動態は抗体の出現状況と密接な関連性を示した。

6) 直接 Coombs 試験陽性抗体 (不完全抗体) はビールス接種量少い場合、感染初期に出現したが、その動態から直接 Coombs 試験は本来の特異的 γ -Globulin 型不完全抗体のみならず、ビールス自体の血球吸着、または感染による蛋白異常状態の血球膜面に及ぼす影響も無視しえない。

7) ビールス感染における抗原抗体系の動態と病理組織像の変化から、ビールス感染に直接基因する抗体の産生機構と同種 (自己) 抗肝抗体の産生機構との間にかかなりの差異を有することが推測された。

8) ビールス接種量が多い場合の感染マウスの肝・脾の組織表現は急速に進行する非特異性炎に幾分近い Arthus 現象類似の滲出性炎であり、ビールス量の少い場合は、比較的穏やかに経過する hyperergic な実質細胞の初期融解壊死果が間葉系細胞により分画化、後結節化する増殖炎の組織反応形式をとる。

9) エ・ビールスによる感染過程において、ビールスの Obligatory Cell parasite としての特性により、接種ビールス量の多少にかかわらず、その感染過程においてはかなり小なりアレルギー過程の成立が認められた。

(本論文の要旨は第7回日本アレルギー学会総会、及び第44回日本消化機病学会総会において発表した)

稿を終るに当たり、終始御懇切な御指導と御校閲を賜った小坂教授、並びに長島助教授に深甚な謝意を捧げます。また貴重なエクトロメリア・ビールス株を供与された本学校微生物学教室に篤く御礼申し上げます。

文

- 1) Hughes. T. P.: J. Immunol., 25, 275, 1933.
- 2) Eaton. M. D., Murphy, W. D. and Hanford, V. L.: J. exp. med., 79, 539, 1944.
- 3) Scheiffarth, F., Bery, G., Frenger, W. and Goetz, H.: klin. Wschr., 33, 711, 1955.

献

- 4) Vorlaender, K. O.: klin. Wschr., 31, 748, 1953.
- 5) 石井潔: 日消会誌, 54, 537, 1957,
- 6) 長島秀夫, 太田康幸: アレルギー, 5, 132, 1956.

- 7) 長島秀夫：日伝会誌, 34, 757, 1960.
- 8) Burnet, F. M. and Boake, W. C.: *J. Immunol.*, 53, 1, 1946.
- 9) Nagler, F. P., Gillian, A. L. and Burr, M. M.: *J. Immunol.*, 65, 701, 1950.
- 10) Salk, J. E.: *J. Immunol.*, 49, 87, 1944.
- 11) 荒木 仁, 森沢曜：日循会誌, 14, 206,
- 12) 伝染病研究所学会編：細菌学実習提要, 丸善(東京), 1955, 1958.
- 13) Kraft, L. M. and Melnick, J. L.: *J. exp. med.*, 92, 483, 1950.
- 14) 態谷直秀：日新医学, 38, 679, 1951.
- 15) 松橋 直：臨病理, 特集, 5, 20, 1957.
- 16) 松橋 直：臨病理, 2, 404, 1954.
- 17) 松橋 直：医学の動向, 20, 1, 1958.
- 18) 小林茂三郎：生物化学, 2, 3, 1954.
- 19) Chu, C. M.: *J. Hyg.*, 46, 42, 46, 1948.
- 20) 氏家睦史：岡山医会誌, 71, 6611, 1959.
- 21) Marchal, J.: *J. Path. & Bact.*, 33, 713, 1930.
- 22) 土肥清一：Virus, 1, 127, 1951.
- 23) Roholm, K. and Iversen, P.: *Acta path. & microbiol. scandinavica*, 16, 427, 1939.
- 24) Fenner, F.: *J. Immunol.*, 63, 341, 1949.
- 25) 土肥清一：Virus, 2, 31, 1952.
- 26) 釈舎龍夫：岡山医会誌, 71, 7832, 7841, 1969.
- 27) 天野重安, 山本 寛, 市田文弘：Virus, 5 (学会特別号), 51, 1955.
- 28) 長島秀夫：日本臨床, 15, 1031, 1957.
- 29) 矢部泰弘：岡山医会誌, 71, 4345, 1959.
- 30) Jarrold, T. and Vilter, R. W.: *J. clin. Invest.*, 28, 286, 1949.
- 31) 三好和夫：血液学会討議会報告, 第5集, 219, 1953.
- 32) Longcope, W. T.: *Handbuch d. spezille path. Anatomie u. Histologie.* (H. Henke u. O. Lubasch) V, 536, 1930.
- 33) Alessio and Choi, C. Y.: *Allergie* (K. Hansen), 704, 1957.
- 34) 馬杉復三, 富塚八十一：千葉医会誌, 9, 1142, 1931.
- 35) 岡林 篤：アレルギー, 90, 金原出版(東京), 1957.
- 36) 川喜田愛野：第15回日本医学会総会学術集会記録II, 1959.
- 37) 宮崎康夫他：日病会誌地方会号, 39, 42, 1950.
- 38) 天野重安：日病会誌, 38, 15, 1949.
- 39) Fagraeus, A.: *Acta med. scandinavica*, 130: Suppe., 204, 1948.
- 40) Harris, T. N. and Harris, S.: *J. exp. med.*, 90, 169, 1949.
- 41) Ehrlich, W. E., Drabskin, D. L. and Forman, C.: *J. exp. med.*, 90, 157, 1949.
- 42) Szanto, P. B. and Popper, H.: *A. M. A. Arch. Path.*, 51, 409, 1951.
- 43) Olitzki, L. and Bernkopf, G.: *J. Inf. Disease*, 77, 60, 1945.
- 44) Cavelti, P. A. and Cavelti, E. S.: *Arch. Path.*, 40, 158, 163, 1945.
- 45) 長島秀夫：日本臨床, 20, 25, 1962.
- 46) 和泉正昭：岡山医会誌, 71, 6407, 6415, 1959.
- 47) 平山千里, 且部正規, 右田俊介：綜合医学, 14, 595, 1957.
- 48) Butenandt, A.: 第14回日本医学会総会講演記録, 826, 1955.
- 49) Morgan, W. H. T. and Schutze, H.: *Brit. J. exp. Path.*, 27, 286, 1946.
- 50) Wilson, M. M. and Merrifield, E. V. O.: *Lancet*, 2, 913, 1951.
- 51) Coombs, R. R. A. and Stoker, M. G. P.: *Lancet*, 7, 15, 1951.
- 52) 日比成夫：三重医学, 2, 457, 1958.
- 53) 進藤宙二：日細会誌, 13, 560, 1958.
- 54) 細田行隆：アレルギー, 7, 219, 1958.
- 55) Diamond, L. K. and Abelson, N. M.: *J. Clin. Invest.*, 24, 122, 1945.
- 56) 山本祐夫：日医新報, 1801, 10, 1958.
- 57) 中村豊：血液学会討議会報告, 第3輯, 213, 1950.

Immunoserological Studies on Experimental Virus Hepatitis
1st Chap. An Immunoserological Study of Antigen-Antibody
Reactions on Infection

By

Tadakazu AISA

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

Studies were made on the antigen-antibody reactions in Ectromelia virus hepatitis and the following results were obtained:

1) Elementary body in the parenchymal cells of the liver was always observed on the third day after the intraperitoneal inoculation of Ectromelia virus, regardless of the amount inoculated. Inclusion body was found in some instances to which a rather larger amount of the virus was inoculated. The changes in chick hemoagglutinin in the blood appeared to be almost similar to those of the elementary and inclusion bodies.

2) Regardless of the amount of virus inoculated, antiviral complement fixation antibody, which was directly produced by viral infection, and hemoagglutinin inhibitor were noted in an early stage of the infection with their highest titres at 6th to 10th days. However, somewhat lower titres of those antibodies in the blood were observed when a larger amount of virus was inoculated.

3) Auto-liver antibody was continuously noted, even rather low titer, during the later stage of the infection (after 21st day), when a small amount of virus inoculated, and there were marked generalized pathological reactions of the mesenchymal tissue and hyperergic processes such as proliferative demarcation to fibrosis of necrotic parenchymal liver cells. Simultaneously, the auto-liver antibody presented positive cross-reactions with some of soluble infected liver tissue component and liver-phosphatid-antigen (mouse and rabbit).

4) When a small amount of virus inoculated the organ-antibodies to soluble infected liver tissue component, which was so-called accompanied substance with infection, were produced in the early stage of infection and had been maintained for a considerable period of time. Changes in the organ-antibodies were almost similar to those of anti-virus antibodies in the early stage and then to those of auto-liver antibodies in the later stage. Heterophile antibody (Paul-Bunnell reaction) was noted in the early stage, while anti-liver phosphatid antibody was noted in the later stage.

5) Changes in γ -globulin were considered to be closely related to the production of antibodies despite the fact that serum protein was affected by infection because of decreased production of albumin in the early stage of infection and also of participation of globulin from unspecific necrosis of parenchymal liver cells.

6) When a small amount of virus inoculated the positive direct-Coomb's antibody, which was an incomplete antibody, appeared in the early stage of the infection. In view from the changes in the positive direct-Coomb's antibody, not only such incomplete antibody in specific γ -globulin type but also those factors as adhesion of virus to erythrocytes and influence of affected serum albumin by infection upon surface potential of erythrocytes appeared to play significant roles in the direct Coomb's test.

7) In view from the alternations of the antigen antibody system and histological findings in the viral infection, different mechanisms of antibody production between anti-virus and auto-liver antibodies were postulated.

8) When a large amount of virus inoculated, histological feature of the liver and spleen of the infected mouse was a rapidly progressing unspecific exudative inflammation like Arthus's phenomenon. When a small amount of virus inoculated, a relatively mild hyperergic productive inflammation in which colliquative necrotic foci of parenchymal cells were demarcated by mesenchymal cells and then became nodular was noted.

9) At any rate, an allergic process was observed in the Ectromelia virus infection regardless of the amount of the virus inoculated since that was a feature of the virus as a obligatory parasite.
