

A : Control (20-30 d), B : Control (2-8 m),  
 C : Control (2-5 y), D : Control (7-12 y),  
 E : Neonatal hepatitis, F : Congenital biliary atresia

図 4 Quantitative distribution of total serum bile acid levels and serum C : CDC ratio in each groups.

になると 1.0 以下になった。

4) NH と CBA の比較 (図 4)

血清中胆汁酸値を A, B, C, D 群の健康小児と E 群の NH, F 群の CBA に分け比較すると血清中総胆汁酸値は F 群の CBA が最も高値, C : CDC ratio は D 群の健康学童児が最も高値, E, F 群ともに健康小児より低値であった。

IV. 考 案

胆汁酸は肝細胞でコレステロールの側鎖が切れて生ずる異化代謝産物である。ヒトに存在する主な胆汁酸のうち, C と CDC は, 肝細胞においてコレステロールから

直接生成されるので一次胆汁酸とよばれ腸管内に出た胆汁酸は, 腸内細菌の作用によって C からは DC, CDC からは L の 2 次胆汁酸がおのおの生じている。

肝疾患時血清中胆汁酸が増加することは既知の事実であるが, その機構は必ずしも明らかではない。CBA の血清中に多量の LC の出現を認めるが CBA では胆汁酸の腸肝循環がなされておらず, この LC は直接肝で合成された一次胆汁酸と考えられる。胎便中に LC を認めているし, CBA の尿中に 3β-OH-5-cholenic acid が存在していることより, コレステロールにより直接 LC が産生される side pathway が考えられている。LC をはじめとする monohydroxy bile acid の存在が NH や CBA の共通の病因であるか, あるいは胆汁うっ滞による胆汁酸代謝の変化の結果であるのかいまだ明らかにはれないが, この強い胆汁うっ滞作用のある monohydroxy bile acid が強い肝細胞毒作用を有していることが家兎, ラットの実験で明らかになってきたので, 少なくとも LC の存在が NH, CBA に悪影響を及ぼしていることは確かである。

胆汁酸を測定して CBA と NH の鑑別をする場合, 十二指腸ゾンデにて採取した液より, 胆汁酸を証明できれば CBA は否定され, 血清中胆汁酸を測定し, 総胆汁酸値が高値で, しかも LC を認め, C : CDC ratio が 1.0 以下の場合 CBA が考えられる。このことは, 経過を追って測定するとさらに確実なものになる。

α-Fetoprotein の免疫統禦作用について

帝京大学小児科 伊 東 繁 吉 野 加津哉  
 牛 島 広 治 金 子 尙 代  
 藤 井 良 知

I. はじめに

過去において, われわれは臍帯血由来の α-Fetoprotein (AFP) が, in vitro において細胞性免疫機能に対し抑制的に作用することを示した。すなわち, ①リンパ球の幼若化反応に対し, 抗原無添加の場合も, 抗原として PHA, Con A, あるいは PWM を用いた場合も, AFP は抑制的に作用し, しかも, この抑制効果は 12 ml

という低濃度で発揮されること, dose dependent に抑制効果が深まること, ②リンパ球の混合培養 (MLC) に対しても dose dependent に抑制効果を示すこと, を明らかにしてきた。

免疫機能の統御因子としての AFP の役割をさらに解明するために, 以下の実験をおこなった。

II. 材料および方法

表 1 Effect of Cord Serum on Lymphocyte Blastformation

	Mitogens			
	—	PHA	Con A	PWM
Control*	384	190097	74290	68400
Case 1**	272	163561	77030	83511
Case 2**	267	168207	83097	97200
Case 3**	238	171002	90873	77123
Case 4**	274	168440	82473	83820
Case 5**	183	166621	73480	86627

C. P. M.

\*  $5 \times 10^5$  cells were cultured in RPMI 1640, 10% FCS, 10% autologous serum, PC 100 U/ml, SM 100 gamma/ml.

\*\* Cord serum, heat-inactivated, was added 10% of final volume, from different donor in each case.

AFP concentration is  $8.9 \times 10^4$  ng/ml in case 1,  $16.5 \times 10^4$  ng/ml in case 2,  $16.1 \times 10^4$  ng/ml in case 3,  $33 \times 10^4$  ng/ml in case 4,  $12 \times 10^4$  ng/ml in case 5.

1. AFP の分離: プール臍帯血清を, affinity column chromatography および Sephadex G 200 による column chromatography により分離, 精製した。

2. リンパ球幼若化反応: 末梢血より分離したリンパ球を, Eagle MEM で洗浄後, RPMI 1640 (非働化ウシ胎児血清 10%, PC 100 u/ml, SM 100  $\gamma$ /ml 添加) に浮遊し, 37°C, CO<sub>2</sub> 5% の条件下で 72 時間培養後, <sup>3</sup>H-thymidine の DNA 合成へのとりこみを液体シンチレーション・カウンターで測定した。抗原を添加する場合は, 培養容量 1 ml に対し PHA 5  $\gamma$ , Con A 5  $\gamma$ , PWM 0.1 ml の濃度で用いた。

3. リンパ球混合培養: 培養液は 2. の場合と同様のものを用い, 同様の培養条件下で 7 日間培養し, 同じく <sup>3</sup>H-thymidine のとりこみを測定した。

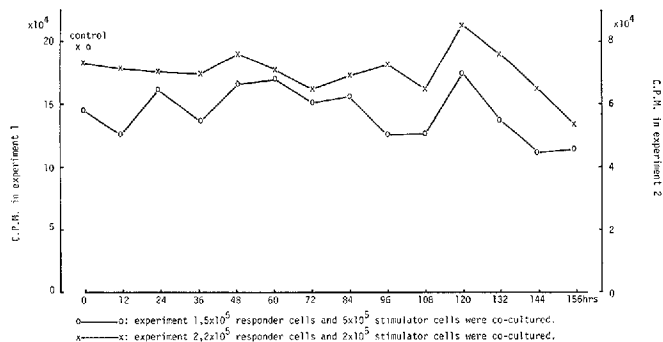


図 1 Time Dependent Effect of AFP on Mixed Lymphocyte Culture

表 2 Effect of Cord Serum, Albumin, Transferrin on Lymphocyte Blastformation

	C. P. M.
no serum added	95600 ± 10205
autologous serum 0.05 ml	185881 ± 188
autologous serum 0.1 ml	174672 ± 7292
cord serum (AFP 5 $\gamma$ contained)	153678 ± 12593
cord serum (AFP 10 $\gamma$ contained)	177221 ± 8841
albumin 5 $\gamma$	116081 ± 2818
albumin 10 $\gamma$	86984 ± 4029
transferrin 5 $\gamma$	180810 ± 25911
transferrin 10 $\gamma$	167900 ± 4322

In each culture,  $5 \times 10^5$  lymphocytes were cultured with 5 gamma of PHA, in 1 ml of culture medium.

## III. 結 果

1. リンパ球の幼若化反応におよぼす臍帯血清の影響: 培養の初期に, 臍帯血清を 10% の濃度になるように加え, 抗原無添加の場合, 抗原として PHA, Con A, PWM を加えた場合についてみると, 表 1 のように, 抗原無添加の場合および PHA 添加の場合に <sup>3</sup>H-thymidine のとりこみは抑制された。しかし, この抑制は, AFP 濃度として 10 ないし 30  $\gamma$ /ml という高濃度の割合には著明ではなかった。また, Con A 添加の場合には抑制がかからず, PWM の場合には, むしろやや増強される結果となった。

2. リンパ球の幼若化反応におよぼす Albumin, Transferrin の影響: Albumin を 5  $\gamma$ , 10  $\gamma$  の濃度で添加した場合, 血清を加えない場合とほぼ同程度の反応であり, 自己血清を加えた場合と比較すると著明に反応は抑制された。

Transferrin を加えた場合には, 自己血清を加えた場合とほぼ同程度の反応が得られた (表 2)。

3. リンパ球混合培養におよぼす AFP の影響の経時的变化: MLC の培養の経過中, 12 時間毎に 1  $\gamma$ /ml の濃度で AFP を作用させていく場合 (図 1), 対照 (AFP 無添加の場合) と比較すると, 0 時間の時点から抑制がみられるが, 48 ないし 60 時間に作用させた際には, 抑制効果がやや低下し, その後再び 0 時間の作用とほぼ同様の抑制効果が得られるようになるが, 120 時間目の添加で, 抑制効果が除かれる。その後は急激に抑制がかかり, 144 ないし 156 時間 (収穫の 12 時間前) の AFP 添加によ

って最大の抑制効果が得られる。

#### IV. 結論および考察

臍帯血より分離精製した AFP は、1  $\gamma$ /ml ほどの低濃度で、抗原無添加、PHA、Con A、あるいは PWM 添加のリンパ球幼若化反応を有意に抑制する効果をもつ。臍帯血血清そのものを用いた場合にも、抗原無添加、PHA 添加の幼若化反応を抑制することができるが、この際の AFP 濃度は 10 ないし 30  $\gamma$ /ml と比較的高濃度であり、しかも、この濃度でも Con A、PWM 添加の幼若化反応に対しては抑制効果をもたらさない。また、臍帯血血清の濃度のちがいが dose dependent に影響するという結果も得られなかった。このことの説明として、一つには donor のちがいによる AFP の特異性の相違があるということが考えられる。Yachnin<sup>1)</sup> によると、肝癌患者の腹水から抽出した AFP は、2.5 mg/ml の濃度で PHA、Con A に対するリンパ球の幼若化反応を抑制し、MLC に対しては 250~500  $\gamma$ /ml の濃度では抑制がかかるが、100  $\gamma$ /ml ではかからないという。また、胎児由来の AFP では、1~5  $\gamma$ /ml の濃度で 50% の抑制が得られるという。彼らの実験結果からも、AFP の抽出原のちがいにより、抑制効果のことなるいくつかの種類の AFP が存在している可能性が示唆される。

新生児肝炎 (NH)、先天性胆道閉鎖 (CBA) では、患者の血清中に高濃度の AFP の出現をみるが、NH の方が CBA より高い AFP 値を示すという<sup>2)</sup>。もしも、この二疾患の間で、AFP の質的相異があるとするなら、それらの免疫抑制効果にちがいがみられる可能性もある。

臍帯血血清が精製 AFP より抑制効果が低いことの説明として、二つ目に、他の血清蛋白が、AFP に対して

拮抗作用を有する可能性がある。これをたしかめるために、Albumin および Transferrin のリンパ球幼若化反応におよぼす影響をみたが、いずれも、反応を増強させる効果を示すことはなかった。

Smith ら<sup>3)</sup>によると、急性肝細胞疾患、あるいは慢性活動性肝炎の患者のリンパ球は、ウサギ肝細胞に対する傷害作用を強くもつという。このことは、一次性の肝疾患においては細胞性免疫機能特に Helper 作用が亢進している可能性を示唆している。NH において AFP が高濃度に出現するという現象は、あるいは、細胞性免疫機能の異常亢進を抑制するための合目的な生体のメカニズムによるものかも知れない。しかし、AFP が細胞性免疫機能をどのレベルで統御しているのかという点になると、未だ明らかではない。すなわち Helper 細胞を直接おさえるのか、Suppressor 細胞を刺激することによって間接的に作用するのか、あるいは macrophage の抑制作用を刺激するのか、など、いくつかの作用機序が推測される。MLC のある時期に AFP を作用させた場合に抑制効果を免れるという現象をいかに解釈するかという点も重要なポイントとなると思われる。

#### 文 献

- 1) S. Yachnin: Demonstration of the inhibitory effect of human alpha-fetoprotein on in vitro transformation of human lymphocytes. Proc. Natl. Acad. Sci., 73: 2857, 1976.
- 2) J. M. Andres: Alpha-fetoprotein in neonatal hepatobiliary disease. J. Pediatr., 91: 217, 1977.
- 3) A. L. Smith, et al.: Cytotoxicity to isolated rabbit hepatocytes by lymphocytes from children with liver disease. J. Pediatr., 91: 584, 1977.

## 乳児閉塞型黄疸におけるサイトメガロウイルスの分離状況

都立駒込病院感染症科 南谷 幹夫 村岡 良昭

新生児肝炎の病因として現在までに多くの説があり、先天感染が有力な原因とされ、ウイルスとしてはサイトメガロウイルス (CMV) のほか、ヘルペスウイルス、風疹ウイルスがあげられている。また先天性胆道閉鎖症の成立機転にも何らかの炎症性変化が関与しているのであろうと考えられ、両疾患は同一病因による可能性も示

唆されている。

われわれは乳児肝炎例のバイオプシー材料より CMV を分離し、また各種肝疾患や重症疾患における CMV の関与について発表し、先天性胆道閉鎖症と CMV との間には関係がなく、新生児肝炎からは CMV が分離されやすいと述べた。

↓  
**検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります  
↓

## 1.はじめに

過去において,われわれは胎帯血由来の  $\alpha$ -Fetoprotein(AFP)が, *in vitro* において細胞性免疫機能に対し抑制的に作用することを示した。すなわち,(1)リンパ球の幼若化反応に対し,抗原無添加の場合も,抗原として PHA, Con A,あるいは PWM を用いた場合も,AFP は抑制的に作用し,しかも,この抑制効果は 12ml という低濃度で発揮されること,dose dependent に抑制効果が深まること,(2)リンパ球の混合培養(MLC)に対しても dose dependent に抑制効果を示すこと,を明らかにしてきた。

免疫機能の統御因子としての AFP の役割をさらに解明するために,以下の実験をおこなった。