

さて、過去3年間に経験した先天性胆道閉鎖症13例のうち10例は図1に示すごとく、この範囲を越える異常高値を示したが、他の3例のAFP値はこの正常範囲内であった。AFP値の最高は79,400 ng/mlで、最低は14.7 ng/mlであり、値のばらつきは意外に大きかった。AFP値と患者の日令、病型、術後胆汁流出状況などとの関係は表1に示すとおりである。種々検討を加えてみたが、現在までのところ、これらの要因とAFP値との間に一定の関係を見出すことは出来なかった。

尚、新生児肝炎の1例は血清AFP値114,100 ng/mlという著るしい高値を示した(表1)。

III. 考 按

胆道閉鎖症におけるAFP値は表1或いは図1に示すごとく、非常に大きなばらつきを示し、うち3例は我々の求めた正常範囲内であった。AFP値はもともとばらつきの大きいものでなく、腫瘍例(肝芽腫や悪性奇形腫)での経験によれば、500 ng/ml程度の動きでも必ず何らかの臨床経過の変動と関連させて意味づけすることが可能である。従って、我々には表1に示される数値も必ず何らかの意味を持っているものと考えたい。現在までの分析では、AFPの値を十分に意味づけすることが出来なかったが、今後は組織像の変化とAFP値との関係、

或いは、症状の発現時期とAFP値との関係などについて検討を重ね、本症の病態生理の解明に向って少しでも成果が得られるよう努力を続けて行きたい。

IV. 結 論

先天性胆道閉鎖症並びに新生児肝炎の症例14例について、血清アルファフェトプロテイン値をradioimmunoassay法により測定し、その値を我々が別に求めた乳児期におけるアルファフェトプロテインの正常値と比較し、検討した。胆道閉鎖症におけるアルファフェトプロテイン値は異常高値を示すものから正常範囲に含まれるものまで種々であり、現在の時点では、その意味づけは困難である。恐らく、現在気づかれていない何らかの要因によりその値が左右されているものと考えられ、今後のdataの集積と検討とに期待したい。

文 献

- 1) Tsuchide Y, Endo Y, Saito S, et al: A Study on Alpha-Fetoprotein and Endoclermol Sinus Tumor, *J, Pediat, Surg*, 10: 501, 1975.
- 2) Tsuchide Y, Endo Y, Saito S, et al: Evaluation of Alpha-Fetoprotein in Early Infancy. (to be published.)

α -Fefoprotein の細胞性免疫機能抑制効果について

帝京大学医学部小児科 伊 東 繁 金子 尚 代
吉 野 加津哉 藤 井 良 知
牛 島 広 治

I. は じ め に

α -Fetoprotein (AFP) は、正常胎児の肝において産生されるが、肝癌その他が種々の疾患においても血清中に増加することが知られている。先天性疾患と考えられている先天性胆道閉鎖 (CBA) あるいは新生児肝炎 (NH) においても、著明な血清AFPの増加がみられるところから、AFPが疾患の発生に何らかの関連をもつことが考えられる。

ところで、Murgitaらは、妊娠マウスの羊水中のAFPが、in vitroで免疫抑制的に作用することを見出して

る。

CBAあるいはNHの発症とAFP、および免疫機能の変動との間に何らかの関係があるかこの点の検索が研究の目的であり、その第一段階として、免疫機能におよぼすAFPの影響をみた。

II. 材料および方法

1. 標準AFP: Hoechst社の標準AFPを用いた。
2. ラビットの免疫: 標準AFP 0.5 ml (160 μ g) を、Complete Freund Adjuvantと共に、2週間隔で3回、foot padに注射し、3回目の注射から1週後に耳静脈

より採血し、血清分離し貯えた。以後、必要に応じて booster と採血をくりかえした。

3. Anti-AFP の精製：得られたラビット血清から、硫酸分画により γ -globulin 分画をとりだし、0.1 M NaHCO₃ に対して透析した。蛋白濃度は Lowry の方法によって測定した。

4. Affinity column の作成：Sephacrose 6B に、pH 11 の条件下で CNBr を結合させた。これに、ラビット anti-AFP を加え、4°C で一晚反応させたのち、直径 2.4 cm の column につめ、0.01 M PB, 0.1 M Glycine-HCl buffer, pH 2.8, 2 M NaI, 0.01 M PBS で洗浄した。

5. AFP の分離：プールしておいたヒト臍帯血血清を、上記のように準備しておいた column に注ぎ、溶出液に蛋白が検出されなくなるまで PBS で洗う。ついで、pH 2.8 の 0.1 M Glycine-HCl buffer で、結合している AFP を溶出する。溶出液は、ただちに 0.5 M K₂HPO₄ で中性にした。抽出された AFP は濃縮したのち PBS に対して透析し、さらに Sephadex G 200 で column chromatography をおこなった。AFP の存在およびその濃度は、二抗体法による Radioimmunoassay (α -Feto-125 kit, ダイナボット社)および Single radial immunodiffusion (α_1 -フェトプロテイン「コーワ試薬」, 興和株式会社)によってたしかめた。

6. T cell の検出：橋らの方法(免疫実験操作法 III, 683~687, 1973)を用いた。AFP を作用させる場合、 3×10^6 /ml に調整したリンパ球浮遊液に、各濃度の AFP を加え、37°C, 30 分間インキュベートし、3 回洗ったものを用いた。

7. B cell の検出：リンパ球表面免疫グロブリンレセプターを、FITC ラベル抗血清でとらえた。AFP を作用させる場合、T cell の場合と同様にした。

8. リンパ球幼若化反応の測定：末梢血から分離したリンパ球を、Eagle-MEM で 3 回洗浄し、RPMI 1640 (非働化ウシ胎児血清 10%, Penicillin 100 u/ml, Streptomycin 100 γ /ml 加) に浮遊した。Mitogen は、培養容量 1 ml に対し PHA 5 γ , Con A 5 γ , PWM 0.1 ml の濃度で用いた。AFP を各濃度で反応の初期から加え、自己血清を 10% になるように加え、最終の容量が 1 ml になるように調整し、この中で 10^6 個のリンパ球を培養した。37°C, 72 時間, CO₂ 5% の条件下で培養し、最後の 2 時間, ³H-thymidine を 1 μ Ci 加え、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。臍帯血血清を加える場合は、血清を

56°C, 30 分間インキュベートし、非働化したものを用い、各 well に 0.2 ml (最終 AFP 濃度は 20 γ /ml とする) 加え、同様に培養した。対照として、正常成人血清を同様に非働化したものを用いた。

9. リンパ球混合培養：培養液には RPMI 1640 (非働化ウシ胎児血清 10%, PC 100 u/ml, SM 100 γ /ml 加) を用い、最終容量 1 ml 中に刺激細胞, 反応細胞ともに 2×10^5 個になるように調整し、反応細胞側の自己血清を 10% 加えた。One way culture の場合、刺激細胞の浮遊液に MMC を 25 μ g/ml になるように加え、37°C, 30 分間インキュベートし、3 回洗浄したものを用いた。37°C, CO₂ 5% の条件下で 7 日間培養し、最後の 4 時間を、³H-thymidine と反応させ、収獲後、液体シンチレーションカウンターで測定した。

II. 結 果

1. リンパ球の T・B subpopulation は、AFP の濃度を 0.1 γ /ml, 0.5 γ /ml, 1 γ /ml, 2 γ /ml と変えて作用させた場合、無添加の場合と比較して有意の差を示さなかった。

2. リンパ球の幼若化反応に対しては、抗原無添加の場合も、PHA, Con A あるいは PWM 添加の場合も、AFP は抑制的に作用し、しかも AFP の量が増すにつれて抑制が強まることがわかった(図 1, 2)。

3. PHA 添加によるリンパ球の幼若化について、さ

BLASTOID TRANSFORMATION OF LYMPHOCYTES

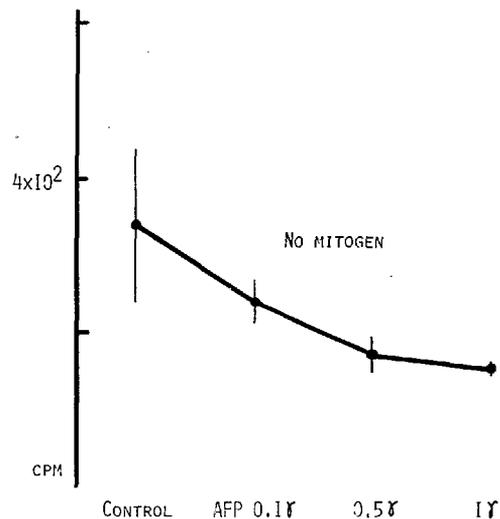


図 1

BLASTOID TRANSFORMATION OF LYMPHOCYTES

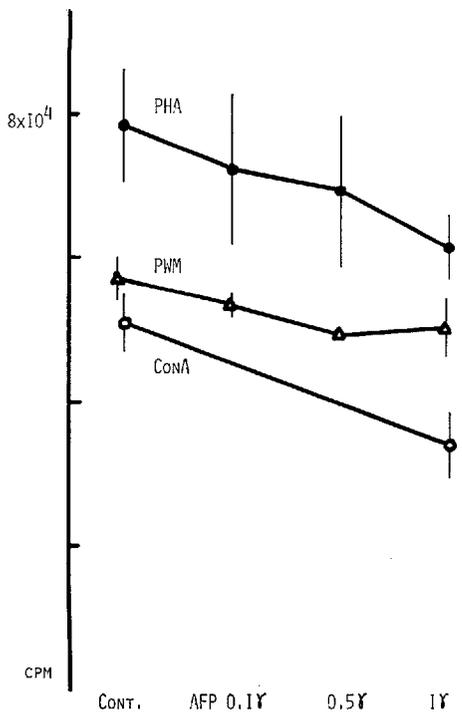


Figure 2

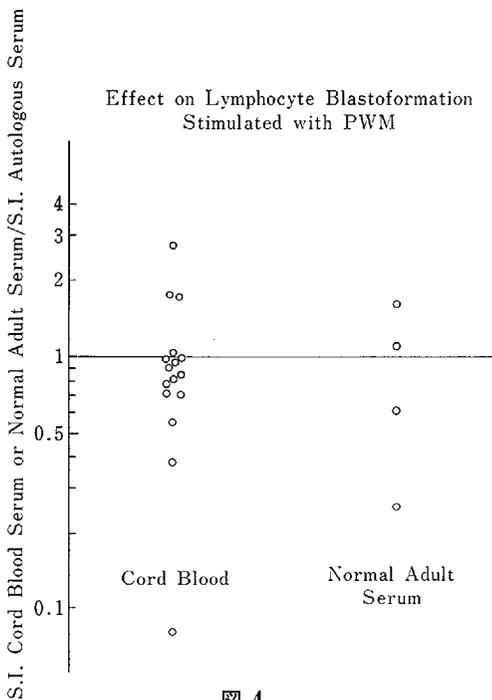


Figure 4

MIXED LYMPHOCYTE CULTURE

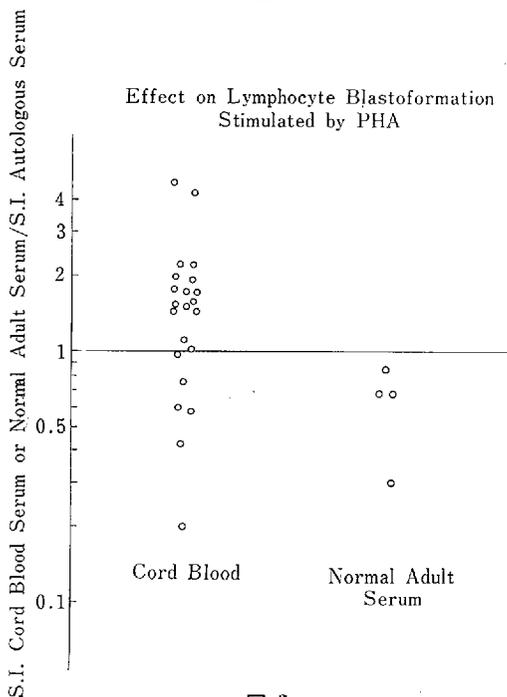


Figure 3

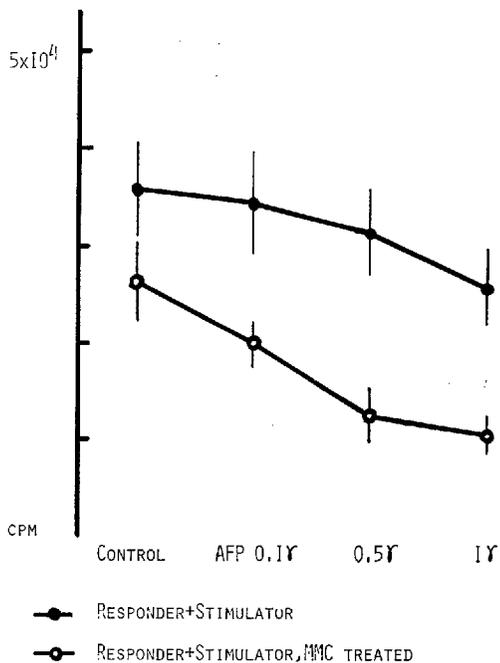


Figure 5

らに、臍帯血清あるいは正常ヒト血清を加えた場合の Stimulation Index (S.I.) と、自己血清を加えた場合のとの比でみると、図3のように臍帯血のほうでのあがる傾向がみられた。PWM 添加による幼若化を同様にしてみると、図4のように、ほとんど変化はみられなかった。

4. リンパ球混合培養に対しても、AFP は dose dependent に抑制作用を示すことが判った(図5)。

III. 考 察

我々の実験結果は、*in vitro* において、AFP が細胞性免疫機能に対し抑制的に作用することを示した。このことは、生体内においても AFP が抑制的に働いていることの可能性を示唆している。

Murgita らは、マウスの羊水中の AFP が *in vitro* の抗体産生あるいはリンパ球の幼若化を抑制することを見出した。また、Yachnin らは、ヒト胎児および Hepatoma 由来の AFP に、同様にリンパ球幼若化を抑制する作用があると述べている。

ヒト胎児血清中の AFP 濃度は、13~14週で最高のレベルに達し、およそ 300 mg/dl 前後となるが、その後、妊娠月数とともに減少し、34週で 6 mg/dl 以下になるという。およそ 100 例の、分娩時臍帯血ブール血清についての我々の測定では、約 10 mg/dl という濃度を示した。

いずれにせよ、MLC において、1 γ /ml の濃度の AFP で、幼若化が約 50% に抑制されることをみるならば、妊娠末期においてさえ、生体内にその数十倍の AFP が存在するということが、非常に強い抑制が加えられていることを意味している。AFP による、この強力な細胞性免疫機能の抑制効果が、一般的に考えて、免疫学的にはヘテロであるはずの母・児の共存を許しているものと考えられる。

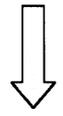
それならば、次に、分娩という現象をどうとらえるべ

きか。仮に分娩を免疫学的な rejection と単純にとらえたとしても周産期の児の血清 AFP 濃度が依然として数 mg/dl ないし数十 mg/dl のレベルを保っていることから考えて、単に AFP 濃度の減少ということだけでは説明しえないと思われる。図3に示したように、臍帯血清を加えたリンパ球培養では、PHA に対する幼若化現象が増強しており、この結果からあえて推測するならば、分娩時には AFP に拮抗して、細胞性免疫機能を賦活する何らかの因子が関与しているという可能性が考えられる。

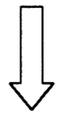
病的状態における AFP の増加については原発性肝癌がその代表的な疾患であるが、CBA あるいは NHF においても、明らかな異常高値がみられる。しかし、原発性肝癌における AFP は、一般には病気の進行と共にその濃度を増すのに対し、CBA、NH の AFP は、経日的に血中濃度を減じてくるといわれている。この AFP 濃度の低下が、正常児における自然の低下と同様のものであるのか、あるいは肝細胞の障害の進行によってもたらされるのかは不明である。

CBA、NH においては、胎児期から AFP は高濃度に存在している可能性がある。胎児の AFP は、母体に移行することが知られており、胎児の AFP 濃度は母体血清の AFP 濃度に反映してくるので、出生前の母体血清中の AFP 濃度の測定、あるいは出生前の一定の時期の母体血清の、細胞性免疫機能への影響を検索することにより、CBA、あるいは NH の出生前の診断が可能になるかも知れない。

つけ加えて、CBA、NH の患者には、易感染性が比較的強いと考えられるが、この点について、従来は、ビリルビンの細胞性免疫機能への障害作用に起因すると考え方が一般的であった。しかし、AFP がこれに関与しているという可能性も否定しえないと思われるので今後の検討が望まれる。



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



.はじめに

-Fetoprotein(AFP)は,正常胎児の肝において産生されるが,肝癌その他が種々の疾患においても血清中に増加することが知られている。先天性疾患、と考えられている先天性胆道閉鎖(CBA)あるいは新生児肝炎(NH)においても,著明な血清 AFP の増加がみられるところから,AFP が疾患の発生に何らかの関連をもつことが考えられる。