

家兔新生児は分娩後1日、7日、14日目にそれぞれ殺処分を行ない、親家兔は分娩後14日目に処分し、病理組織学的検査に供した。組織採取部位は肝右葉・左葉、肝門部および胆管中部とし、10%中性緩衝ホルマリン液および凍結により固定を行ない、H・E、PAS、ビリルビン、脂肪、Al-pの各染色を施した。

〔成績〕

親家兔：85および425 μ g/kg投与群で肝細胞内空胞がわずかに認められ、8.5mg/kg投与群では肝細胞壊死および中等度のPAS陽性空胞がみられた。

新生家兔：分娩後1日目の新生児肝では全例細胞内空胞が強度に認められたが、脂肪染色陽性であり、LAの影響はみられなかった。しかしAl-p染色で425 μ g/kgおよび8.5mg/kg群の肝組織にGranulocyteを多数認

め、また8.5mg/kg投与群の1例にPAS中等度陽性の例をみた。しかし分娩後14日目の同腹仔では、同顆粒は正常量で、他にこのような所見は認められなかった。肝内胆管はLAの投与量が増すに従って、その量が増加する傾向にあったが、肝内胆管壁細胞に著変はみられず、また8.5mg/kg投与群の分娩後1日目の肝細胞にみられた肝細胞の強度の破壊像も同腹仔14日目の肝には同様所見を認め得なかった。ビリルビン染色では親家兔も含め全例に同顆粒の陽性例をみなかった。

〔結論〕

本実験の結果、リトコール酸の胎児肝におよぼす影響は、①肝細胞毒としてのその破壊、②肝内胆管の増生を認めたが、CBAにみられる特徴的所見は認められなかった。

Alpha-fetoprotein (AFP) in vitro の抗体産生抑制作用について

帝京大学小児科 吉 野 加 津 哉
伊 東 繁
沖 津 祥 子
柱 新 太 郎
橋 本 剛 太 郎
藤 井 良 知

I. はじめに

新生児肝炎(NH)、先天性胆道閉鎖(CBA)において血中 α -fetoprotein (AFP)が高値をとることの意義づけは未だ明確ではない。急性肝細胞疾患、あるいは慢性活動性肝炎の患者リンパ球は、ウサギ肝細胞に対して強い細胞傷害作用をもつという¹⁾。このことは、これらの肝疾患においてはKiller活性あるいはHelper活性が亢進している可能性を示唆している。AFPが高濃度に出現するという現象は、細胞性免疫能の異常亢進を抑制するための目的的な働きなのかも知れない。我々は過去においてAFPの免疫抑制作用をリンパ球の幼若化、MLRなどにおいて検討してきたが、その作用機序は不明であった。今回、我々は抗ウサギ赤血球溶血斑形

成反応(抗SRBC CPFC)法を用いて、AFP感作T μ あるいはT γ 細胞の溶血斑形成反応への影響を検討した。

II. 材料および方法

1. AFPの分離：ヒト臍帯血ブルー血清より、アフィニティー・クロマトグラフィーを用いて分離した。
2. T, T μ およびT γ リンパ球の分離：正常成人末梢血から比重遠心法で分離したリンパ球を、さらにGuptaらの方法の変法を用いて分離した。
3. 抗SRBC PFC反応：1 \times 10⁶個のリンパ球を1 \times 10⁶個のSRBCとともに15%ウシ胎児血清加RPMI 1640で、PWMの存在下に7日間培養し、その後カンガムのチェンバー内でdirect PFCの数として算定した。

表 1 Kinetics of anti-SRBC PFC response¹⁾

| Day | PFC/10 ⁶ | |
|-----|---------------------|--------|
| | Exp. 1 | Exp. 2 |
| 3 | 1 | 5 |
| 4 | 19 | 31 |
| 6 | 24 | 37 |
| 7 | 246 | 52 |
| 8 | 26 | 58 |
| 9 | ND ²⁾ | 1 |
| 10 | 1 | ND |

¹⁾ 1×10^6 lymphocytes were cultured with 1×10^5 SRBC for various days described above.

²⁾ ND, not done.

III. 結果

1. PFC 反応における最適条件: 1×10^6 個のリンパ球を 1×10^5 個の SRBC とともに培養し, 経日的に PFC 反応をみると, 7 日前後に最も強上反応がみられた (表 1)。また, 培養の初期から種々の濃度の AFP を作用させると, $0.03 \mu\text{g/ml}$ の濃度ですでに 90% 前後の PFC 反応の抑制がみられ, $0.25 \mu\text{g/ml}$ ではほぼ 100% の抑制がみられた。以下の実験においては, リンパ球の培養期間は 7 日間, 抑制試験における AFP 濃度は $1 \mu\text{g/ml}$ とした。

2. AFP 感作リンパ球の抗 SRBC PFC 反応への抑制作用: 上述のように, 培養過程に AFP が存在すると PFC 反応が抑制されるが, この抑制が AFP の抗体産生細胞への直接作用である可能性もある。そこで, リンパ球に $1 \mu\text{g/ml}$ の濃度の AFP を加えて 2 日間培養したのち十分に洗浄し, このリンパ球の 1×10^5 個と SRBC 1×10^5 個を, 新たに分離したリンパ球 1×10^6 個に加え, 同様に 7 日間培養したのち PFC 反応をみた。これによ

表 2 Inhibitory effect of AFP or ConA-precultured T cells on anti-SRBC PFC¹⁾

| T Cells Precultured with | PFC/10 ⁶ | % Inhibition |
|--------------------------|----------------------------|--------------|
| — | 160 ± 20 ²⁾ | — |
| AFP | 26 ± 15 | 84 |
| ConA | 6 ± 2 | 96 |

¹⁾ 2×10^6 T cells were precultured with AFP, $1 \mu\text{g/ml}$ or ConA, $5 \mu\text{g/ml}$ for 2 days, washed and 1×10^5 precultured cells were added to 1×10^6 whole lymphocytes, cultured with 1×10^5 SRBC for 7 days.

²⁾ Mean \pm SD.

表 3 Effect of AFP on anti-SRBC PFC in reconstituted lymphocyte combinations¹⁾

| Cells | AFP | PFC/10 ⁶ |
|-----------------|-----------------|---------------------|
| nonT | — | 0 ³⁾ |
| | + ²⁾ | 0 |
| nonT+T μ | — | 132 ± 39 |
| | + | 0 |
| nonT+T γ | — | 41 ± 26 |
| | + | 0 |
| nonT+T | — | 93 ± 22 |
| | + | 0 |

¹⁾ 1×10^6 nonT lymphocytes were cocultured with 1×10^5 T, T μ or T γ cells for 7 days with or without AFP.

²⁾ $1 \mu\text{g/ml}$ of AFP was added at the initiation of 7 days' culture.

³⁾ Mean \pm SD.

ると, 何も刺激を加えずに前培養したリンパ球を加えると前培養細胞を加えない場合の PFC 反応と比較して全く変化はないが, AFP 添加で前培養したリンパ球を加えると, 50% 以上の PFC 反応の抑制がみられた。対照として $5 \mu\text{g/ml}$ の ConA 添加で前培養したリンパ球を加えると 100% 近い抑制がみられた。

3. AFP 感作 T リンパ球の抗 SRBC PFC 反応への抑制効果: つぎに, T リンパ球を分離し, 同様に AFP または ConA と共に, または刺激物質を加えずに 2 日間培養したものを新たな 7 日間のリンパ球の培養系に加えた。AFP 前培養 T リンパ球を加えた場合は, 無添加前培養 T リンパ球を加えた場合と比較して 84% の PFC 反応の抑制がみられた。ConA 前培養 T リンパ球を加えた場合の抑制は 96% であった (表 2)。

4. 再構築したリンパ球各成分の組合せにおける抗 SRBC PFC 反応への AFP の影響: 1×10^6 個の nonT リンパ球に 1×10^5 個の T リンパ球, あるいは T μ , T γ リンパ球を加えて, AFP 添加, あるいは無添加で 7 日間培養し, その後抗 SRBC PFC 反応をみると, AFP を加えない場合 (nonT+T μ) の組合せは (nonT+T) の組合せより強い PFC 反応がみられたが, (nonT+T γ) の組合せは (nonT+T) の組合せより有意に PFC 数が減少した。(nonT) のみの場合には全く PFC は出現しなかった。また, いずれの場合にも, AFP を添加すると PFC 反応は完全に抑制された (表 3)。

5. AFP 感作 T μ , T γ および nonT リンパ球の抗 SRBC PFC 反応への影響: AFP で前培養した T μ リンパ球は抗 SRBC PFC 反応を著明に抑制したが, ConA で前培養した T μ リンパ球はさほど強い抑制作

表4 Effect of AFP or ConA-precultured T μ , T γ and nonT cells on anti-SRBC PFC¹⁾

| Precultured Cells | Precultured with | PFC/10 ⁶ | |
|-------------------|------------------|-----------------------|--------------|
| | | Experiment 1 | Experiment 2 |
| — | | 291±183 ²⁾ | 194±131 |
| T μ | AFP | 19±12 | 23 |
| | ConA | 36±16 | 123±53 |
| T γ | AFP | 196±206 | 76±38 |
| | ConA | 54±20 | 10±10 |
| nonT | AFP | 52±19 | 100±90 |
| | ConA | 2±2 | 0 |

1) 2x10⁶ T μ , T γ and nonT cells were precultured with AFP, 1 μ g/ml or ConA, 5 μ g/ml for 2 days, washed and 1x10⁵ of these cells were added to 1x10⁶ whole lymphocytes, cultured with 1x10⁵ SRBC for 7 days.

2) Mean±SD.

用を示さなかった。これに対し、ConA で前培養した T γ リンパ球は著明に PFC 反応を抑制したが AFP で前培養した T γ リンパ球の抑制作用はわずかであった(表4)。

以上の実験結果から、AFP の抑制作用は T μ リンパ球の機能を抑制することによって発揮されることが示唆された。

IV. 考 察

T μ リンパ球、T γ リンパ球は、それぞれ機能的にはヘルパー-T細胞、サブレッサー-T細胞として働くと考えられるが、上述の実験結果から、AFP の免疫抑制効果はヘルパー-T細胞の機能を抑制することによって発揮されるものと考えられた。

Murgita らは、マウスの実験系を用いて同様の観察

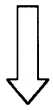
をおこなっている。すなわち、AFP で感作したリンパ球を anti-T+C, anti-Thy 1,2+C あるいは anti-Ly 1+C で処理すると PFC 反応を抑制しないが、anti-Ly 2+C で処理したものは PFC 反応を抑制すると述べている。ヘルパー-T細胞は表面に Thy 1,2 あるいは Ly1 の抗原をもっており、サブレッサー-T細胞は Ly2 の抗原を保有しているところから、彼らの実験においても、AFP の抑制能はヘルパー-T細胞によって媒介されることが結論づけられた。

このことは、AFP の免疫反応への作用がヒトにおいてもマウスにおいても類似のものであることを示している。

我々はすでに、CBA の患者の血清がリンパ球の幼若化反応を抑制することをみてきた²⁾。また、NH の患者血清が抗 SRBC PFC 反応に抑制的に作用することをみた(未発表)。CBA あるいは NH において、はじめに述べたようなリンパ球の細胞傷害性がみられるかどうかは現在のところ明確にしえていない。しかし、もし CBA あるいは NH のリンパ球にそのような現象がみられるならば免疫調節因子としての AFP の役割がより合目的性をもったものとして関連づけられる可能性があるろう。

文 献

- 1) A. L. Smith, et al.: Cytotoxicity to isolated rabbit hepatocytes by lymphocytes from children with liver disease. *J. Pediatr.*, 91: 584, 1977.
- 2) S. Ito, et al.: Alpha-fetoprotein as an immunoregulatory factor in Cholestasis in infancy. Its pathogenesis, diagnosis and treatment, ed. M. Kasai and K. Shiraki, Univ. Tokyo Press, 1980, Tokyo, pp.75—85.



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

新生児肝炎(NH),先天性胆道閉鎖(CBA)において血中 - fetoprotein(AFP)が高値をとることの意義づけは未だ明確ではない。急性肝細胞疾患,あるいは慢性活動性肝炎の患者リンパ球は,ウサギ肝細胞に対して強い細胞傷害作用をもつという¹⁾。このことは,これらの肝疾患においてはKiller 活性あるいはHelper 活性が亢進している可能性を示唆している。AFPが高濃度に出現するという現象は,細胞性免疫能の異常亢進を抑制するための合目的な働きなのかも知れない。我々は過去においてAFPの免疫抑制作用をリンパ球の幼若化,MLRなどにおいて検討してきたが,その作用機序は不明であった。今回,我々は抗ウサギ赤血球溶血斑形成反応(抗SRB CPFC)法を用いて,AFP感作T_HあるいはT細胞の溶血斑形成反応への影響を検討した。