

B型肝炎ウイルス感染症におけるIgA型HBc抗体の臨床的意義

横田 勝至 菅 充生
札幌医科大学内科学第1講座 (主任 谷内 昭 教授)

Clinical Significance of IgA Antibody to Hepatitis B Core Antigen in Patients with Hepatitis B Virus Infection

Katsuji YOKOTA and Mitsuo SUGA
Department of Internal Medicine (Section I), Sapporo Medical College
(Chief : Prof. A. Yachi)

ABSTRACT IgA antibody to hepatitis B core antigen (IgA anti-HBc) was investigated in 85 patients with hepatitis B virus (HBV) infection. For the determination of IgA anti-HBc, a sensitive method was devised utilizing an enzyme immunoassay kit for IgM anti-HBc (CORZYME-M kit). In addition, the molecular forms of IgA anti-HBc in sera and in cultured media of patients' peripheral blood lymphocytes (PBL) were analysed by high speed performance liquid chromatography and the above enzyme immunoassay kit.

The following results were obtained :

1. IgA anti-HBc was only detected in sera of HBs antigen positive patients.
2. IgA anti-HBc was frequently present in patients with HBV infection, but the titer of IgA anti-HBc in asymptomatic carriers was significantly lower than that in other liver diseases. It was noteworthy that the titer of IgA anti-HBc was significantly higher in patients carrying HBe antigen than in HBe antigen-free patients.
3. During the clinical course of acute hepatitis (AH), IgA anti-HBc revealed a high titer at the initial phase and rapidly decreased like IgM anti-HBc in the convalescent phase. In contrast, the titer of IgA anti-HBc in patients with chronic active hepatitis (CAH) remained high during the observation period showing no relation to liver function tests.
4. With respect to the molecular profile of IgA anti-HBc, the polymeric form was predominant in sera from AH patients while the monomeric form was predominant in sera from CAH patients.
5. IgA anti-HBc was frequently produced in the cultured medium of PBL from patients. The molecular forms of IgA anti-HBc in these cultured media were predominantly of polymeric IgA in AH while prominently of monomeric IgA in CAH.

From these results, IgA anti-HBc was found to be a new marker of HBV infection which may

Abbreviations

AH : acute hepatitis
ASC : asymptomatic carrier
CAH : chronic active hepatitis
CIH : chronic inactive hepatitis
HA : hepatitis A
HBV : hepatitis B virus
HPLC : high speed performance liquid chromatography

IgA anti-HBc : IgA antibody to hepatitis B core antigen
IgM anti-HBc : IgM antibody to hepatitis B core antigen
LC : liver cirrhosis
m-IgA : monomeric IgA
NANB : non-A non-B
O. D. : optical density
p-IgA : polymeric IgA
PBL : peripheral blood lymphocytes

reflect the activity of liver cell damage. It is also worthy to note that the differentiation of AH from CAH will be possible by analyzing the molecular form of IgA anti-HBc in sera and the cultured media of PBL.

(Received September 12, 1989 and accepted September 27, 1989)

Key words: HBc antibody (IgA), Polymeric IgA, Monomeric IgA, Hepatitis B, HBc antibody (IgM)

1 緒 言

1971年 Almeida *et al.*¹⁾により報告されたHBc抗体は、B型肝炎ウイルス(HBV)のcoreに対する抗体の総称で、HBVの重要なマーカーである。HBc抗体は感染初期より血中に出現するがHBV排除には関与せず、感染抗体と考えられている。さらに、HBc抗体にはIgM型HBc抗体とIgG型HBc抗体の存在することも明らかにされている^{2,3)}。

一方、ウイルス感染症では血中にウイルスに対するIgA型抗体が出現することが報告され^{4,5)}、IgAが一次免疫応答に関与することが明らかになった。しかし、ウイルス感染時のIgAを中心とする局所免疫については解析されているが、全身免疫系におけるIgA型抗体の機能およびその動態については不明の点が多い。

そこで本研究では、第1にB型肝炎でHBc抗原に対してIgA系の免疫応答(IgA型HBc抗体の出現)があることを明らかにし、その臨床的意義を考察し、第2に血清中ならびに末梢血リンパ球(PBL)が産生するIgA型HBc抗体の分子性状を解析し、その意義についても検討した。

2 研究方法

2.1 対 象

対象は血清HBs抗原陽性者85例である。血清IgA型HBc抗体の測定は、急性肝炎(AH)10例51検体、慢性活動性肝炎(CAH)39例96検体、慢性非活動性肝炎(CIH)17例28検体、肝硬変症(LC)10例12検体、および肝生検にて肝病変の認めない無症候性キャリアー(ASC)9例9検体について行なった。

対照として血清HBs抗原陰性55例を選び、HBc抗体陽性の健康対照(healthy control)21例と、非B型肝炎34例の2群に分けた。後者の内訳はA型肝炎(HA)18例18検体、非A非B型(NANB)AH6例6検体、NANB CAH6例6検体およびNANB CIH4例4検体である。

血清HBs抗原・抗体、HBe抗原・抗体およびHBc抗体はRIA法(Dainabot)で測定した。

2.2 高速液体 chromatography (HPLC)による試料の分画

試料の分画は嵐⁶⁾の報告に準じ、東洋ソーダ社HPLC装置803Aを使用し、カラムはG-3000SWを2本用いて行なった。血清はphosphate buffer saline (pH 7.4)により12倍に希釈しその20 μ lを試料としてカラムに添加し、溶出には0.15 M NaCl加0.02 M 酢酸緩衝液(pH 6.0)を使用して、流速は0.8 ml/minとした。

試料添加22分後より48秒(640 μ l)ずつ分画採取し、その各分画をIgA型HBc抗体およびIgM型HBc抗体の測定に供した。

さらに各分画の溶出部位と分子量の関係を知るため、既知の分子量の標準試料として、gel filtration calibration kit (Pharmacia社)を用いて標準曲線を作製し、polymer型IgA (p-IgA)およびmonomer型IgA (m-IgA)を判定した。

2.3 IgA型HBc抗体の測定

まず抗ヒトIgAビーズを作製した。0.1 M ホウ酸緩衝液(pH 8.0)により2.5%に調整した glutaraldehyde 溶液で polyacetal ビーズを活性化し、0.15 M NaCl 加 0.1 M 炭酸緩衝液 (pH 9.5) に対して十分に透析した抗 α 鎖抗体(DAKO社)を200 μ g/mlの濃度で反応させて抗体をビーズに結合させた。ついでビーズを0.2 M monoethanolamine (pH 8.5)と反応させて活性基を十分にblockした後、0.1% BSA(生化学工業)、0.1 M NaClおよび0.1% sodium salicylateを含む0.01 M 酢酸緩衝液(pH 5.0)中に保存した⁷⁾。

つぎに、IgA型HBc抗体は、CORZYME-M enzyme immunoassay kit (Dainabot)を応用した方法で測定した。すなわち、患者血清はkitに添付された0.01 M リン酸緩衝液(pH 7.5)で約1,000倍に希釈したものを試料とし、またHPLC分画およびPBL培養上清は希釈せずに試料とし、それぞれ200 μ lを反応トレイに入れ、さらに抗ヒトIgMビーズの代わりに前述の方法で作製した抗ヒトIgAビーズを加え、40°C、1時間インキュベートした。ビーズを洗浄後、HBc抗原液200 μ lをトレイに入れ、室温で20時間インキュベート

し、ペルオキシダーゼ標識 HBc 抗体 200 μ l を加え、40°C、2 時間インキュベーション後、発色させ吸光度(O. D. 492 nm)を測定した。測定はすべて duplicate で行ない、その平均吸光度 (O. D.) を IgA 型 HBc 抗体の抗体価とした。

また、HPLC 分画中の IgA 型 HBc 抗体は抗体価のほか、2・2 で述べた溶出曲線の p-IgA と m-IgA の領域の IgA 型 HBc 抗体のピーク値を求め、その比をとり P/M で示した。

なお、IgM 型 HBc 抗体は臨床検査に用いられている CORZYME-M kit を用いて測定し、O. D. (492nm) で示した。

2・4 末梢血リンパ球の培養およびその上清の HPLC 分画

末梢血リンパ球(PBL)の培養は嵐⁶⁾の報告に準じた。患者血液 12 ml をヘパリン (1 cc) 加採血し、Conray-Ficoll 比重遠心法により PBL を分離した。ついでこの PBL を培養液⁶⁾ 1 ml 中に 1×10^6 個浮遊させ、pokeweed mitogen (PWM: GIBCO) を 10 μ l/ml の割合に添加し、CO₂-incubator 内で 37°C、7 日間培養した。培養上清はその 400 μ l を IgA 型 HBc 抗体の測定に使用し、残り全てを Amicon (AMICON) で 50 μ l (約 20~44 倍) に濃縮し、その 20 μ l を 2・2 に記述したと同様の方法により HPLC 分画を行ない抗体の分子性状を検討した。

この末梢血リンパ球培養上清中の IgA 型 HBc 抗体の測定は、AH 7 例、CAH 10 例、CIH 3 例、LC 4 例および健康対照 5 例について行なった。

2・5 推計学的処理

2 群間の有意差検定は Student t-test で行なった。

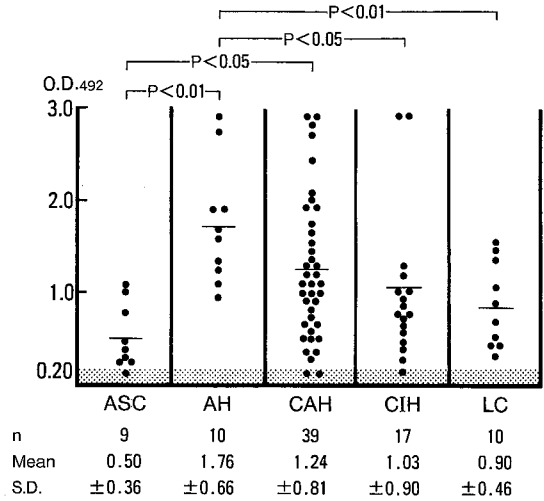


Fig. 1 Serum IgA anti-HBc levels in patients with hepatitis B virus infection.

3 成績

3・1 血清 IgA 型 HBc 抗体の動態

3・1・1 健康対照および非 B 型肝炎における IgA 型 HBc 抗体価

対照とした HBc 抗体陽性の健康対照および非 B 型肝炎計 55 例の、血清中 IgA 型 HBc 抗体価を Table 1 に示した。健康対照 21 例の IgA 型 HBc 抗体価は 0.08 ± 0.04 (平均 \pm SD) であった。非 B 型肝炎のいずれの群も抗体価は低値を示し、健康対照と差を認めなかった。

3・1・2 B 型肝炎疾患における IgA 型 HBc 抗体価

HBs 抗原陽性肝疾患の IgA 型 HBc 抗体の測定結果を Fig. 1 に示した。ASC と AH および CAH, AH と CIH および LC の間において、それぞれ抗体価に有意な差異を認めた ($p < 0.05 \sim p < 0.01$)。健康対照の IgA

Table 1 Serum IgA anti-HBc levels in healthy controls and patients with non-B hepatitis.

group	type	n	IgA anti-HBc	
			range	Mean \pm SD
healthy control		21	0.05-0.21*	$0.08 \pm 0.04^*$
non-B hepatitis		34	0.05-0.18	0.07 ± 0.03
	HA	18	0.05-0.11	0.06 ± 0.01
	NANB AH	6	0.05-0.17	0.10 ± 0.05
	NANB CAH	6	0.05-0.18	0.08 ± 0.04
	NANB CIH	4	0.05-0.13	0.07 ± 0.03

* O. D.

型 HBe 抗体価の平均+3 SD (O. D. 0.20)を正常上界とすると、それ以上を示したものは ASC 9 例中 8 例(8/9), AH 10/10, CAH 37/39, CIH 16/17, LC 10/10 であった。

3・1・3 血清 HBe 抗原の有無と IgA 型 HBe 抗体の関係

HBe 抗原陽性の各種肝疾患において、血清中 HBe 抗原の有無と IgA 型 HBe 抗体の関係について検討し Fig. 2 に示したが、CAH において HBe 抗原陽性群が HBe 抗原陰性群に比し有意に高値を示した(p<0.05)。また、慢性 B 型肝炎 (CAH, CIH, LC) において HBe 抗原の有無と IgA 型 HBe 抗体の関係をみると、HBe 抗原陽性の慢性肝疾患の IgA 型 HBe 抗体価は 1.33±0.86 (n=43), HBe 抗原陰性は 0.75±0.47 (n=23) で、HBe 抗原陽性群が HBe 抗原陰性群に比較して有意 (p<0.01) に高かった。

3・1・4 急性肝炎の経過による IgA 型 HBe 抗体の変動

経過を追って IgA 型 HBe 抗体を測定し得た AH 6 例における急性期と、肝機能正常化が認められた回復期の抗体価を Fig. 3 に示した。急性期の抗体価は平均 2.02 で、回復期においては平均 0.68 であり、回復期に抗体価が有意に低下した (p<0.01)。AH の代表例の経過にともなう IgA 型 HBe 抗体, IgM 型 HBe 抗体および肝機能の変動を Fig. 4 に示した。両抗体は、急性期から高い抗体価を示して肝炎の回復にともないその抗体価は漸減し、肝機能の正常化に遅れてとも陰性化した。経過を観察し得た他の AH 3 例においても同様

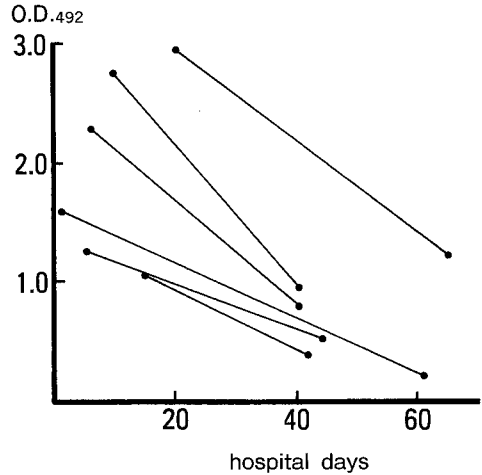


Fig. 3 Serum IgA anti-HBe levels in patients with acute hepatitis. Comparison between acute phase and convalescent phase of the disease.

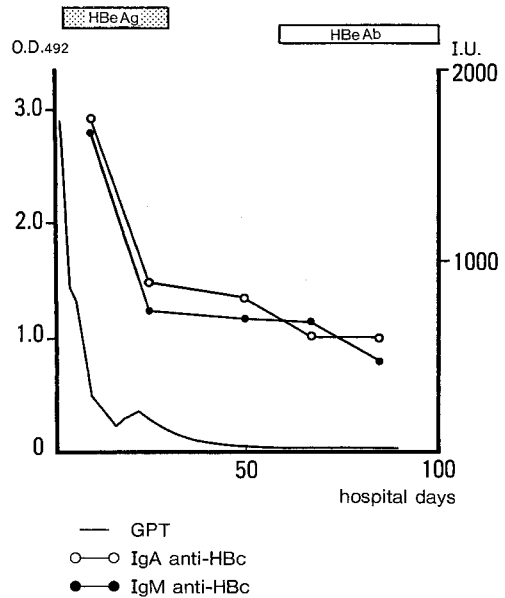


Fig. 4 Changes of serum IgA anti-HBe, IgM anti-HBe and GPT levels in a patient (26y, F) with acute hepatitis.

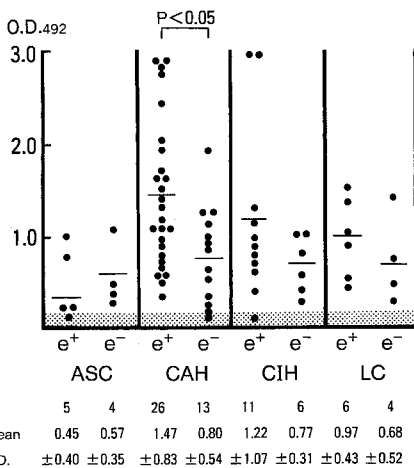


Fig. 2 Serum IgA anti-HBe levels in HBe antigen positive (e⁺) and negative (e⁻) subjects.

の変動を認めた。

3・1・5 慢性肝炎の経過による IgA 型 HBe 抗体の変動

経過観察可能であった CAH の代表例における IgA 型 HBe 抗体, IgM 型 HBe 抗体および肝機能の変動を Fig. 5 に示した。IgA 型 HBe 抗体価は経過を通じて高

値を示し、IgM型HBc抗体価は経過を通じて低値を示した。経過観察し得た他の7例においても同様の変動を認めた。

3・2 血清IgA型HBc抗体の分子性状

3・2・1 HBVの一過性感染例

AHの発病初期と肝機能が正常化した回復期の血清をHPLCにて分画後、各分画中のIgA型HBc抗体を測定した結果をFig. 6に示した。発病初期にはp-IgA領域に一致した分画にIgA型HBc抗体活性のピークを認め、m-IgAの領域にも一部抗体活性を認めた。また、同時に測定したIgM型HBc抗体の溶出パターンをFig. 6に示したが、IgA型HBc抗体の溶出パターンおよび抗体活性のピークの位置とは明らかに異なっていた。一方、回復期にはp-IgAのIgA型HBc抗体活性は明らかに低下した。

AHは頻度が少ないので経過観察し得たのは4例に過ぎないが、溶出曲線のp-IgAおよびm-IgA領域のIgA型HBc抗体価の比(P/M)をとりTable 2に示した。全例において発病初期および回復期は、ともにp-IgA型HBc抗体が優位を示した。また、血清IgA型HBc

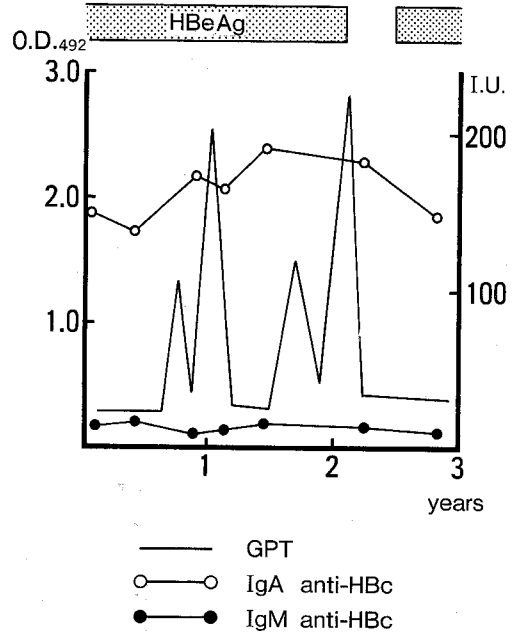


Fig. 5 Changes of serum IgA anti-HBc, IgM anti-HBc and GPT levels in a patient (50y, F) with chronic active hepatitis.

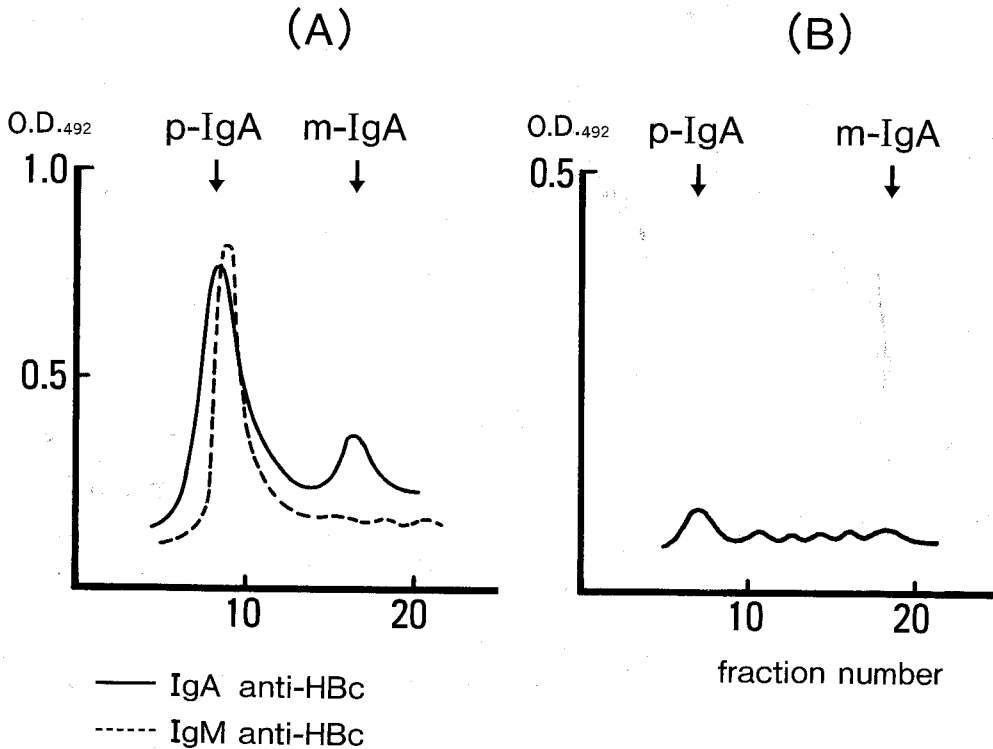


Fig. 6 HPLC elution patterns of serum IgA anti-HBc and IgM anti-HBc in a patient (33y, M) with acute hepatitis. (A) : acute phase (B) : convalescent phase

Table 2 Changes in serum levels of IgA anti-HBc and its molecular forms in patients with acute hepatitis B virus infection.

No.	case	date	age/sex	eAg/eAb	IgA anti-HBc			P/M*
					whole (O. D.)	polymer (O. D.)	monomer (O. D.)	
1	T. Y.	61- 9-20	26/F	+/-	2.96	0.92	0.33	2.78
		61-11- 4		-/-	1.25	0.99	0.14	7.07
2	Y. T.	60- 5- 1	20/F	-/-	2.65	1.06	0.18	5.88
		60- 6- 6		-/±	0.82	0.35	0.10	3.50
3	M. O.	61-11-21	33/M	-/-	1.63	0.45	0.01	45.00
		62- 1-20		-/±	0.21	0.01	0	—
4	T. F.	62- 5-15	39/M	+/-	1.11	0.46	0.07	6.57
		62- 6-12		-/±	0.41	0.28	0.03	9.33

* P/M: polymeric IgA anti-HBc/monomeric IgA anti-HBc

抗体価は発病初期にはきわめて高く、肝炎の回復に伴わない減少したが、この低下にはm-IgA型よりもp-IgA型のHBc抗体の減少が、より大きな影響を与えていた。

3・2・2 HBVの持続感染例

慢性肝炎例の血清をHPLCで分画後、各分画中のIgA型HBc抗体を測定した。Fig. 7にCIHの溶出曲線を示したが、IgA型HBc抗体はp-IgAに一部抗体活性を認めるもののその主体はm-IgAに存在した。

経過観察中の慢性肝炎8例の血清IgA型HBc抗体価と、そのときのIgA分子性状をAHの場合と同様にTable 3に示した。血清IgA型HBc抗体の抗体価にかかわらずP/M比は0.12~0.55で、AHでの結果とは対照的にm-IgA型HBc抗体が優位であった。

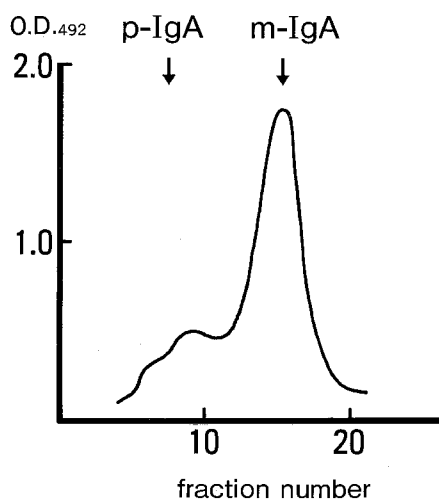


Fig. 7 HPLC elution pattern of serum IgA anti-HBc in a patient (19y, M) with chronic inactive hepatitis.

Table 3 Serum levels of IgA anti-HBc and its molecular forms in patients with chronic hepatitis B virus infection.

No.	case	date	Dx.	age/sex	eAg/eAb	IgA anti-HBc			P/M*
						whole (O. D.)	polymer (O. D.)	monomer (O. D.)	
1	Y. S.	60-12-21	CAH	28/M	+/-	1.44	0.04	0.26	0.15
2	T. S.	60-12- 7	CAH	50/F	+/-	1.61	0.18	1.26	0.14
3	T. K.	60-12- 7	CAH	27/M	+/-	1.36	0.14	1.15	0.12
4	M. S.	62- 1-19	CAH	20/M	+/-	1.82	0.95	1.70	0.55
5	M. Y.	62- 2-24	CAH	35/M	+/-	1.68	0.28	2.32	0.12
6	U. Y.	61- 5-20	CAH	26/F	+/-	1.38	0.10	0.75	0.13
7	H. O.	62- 1-19	CIH	31/M	+/-	0.66	0.15	0.30	0.50
8	T. S.	62- 2-24	CIH	19/M	+/-	1.61	0.44	1.71	0.25

* P/M: polymeric IgA anti-HBc/monomeric IgA anti-HBc

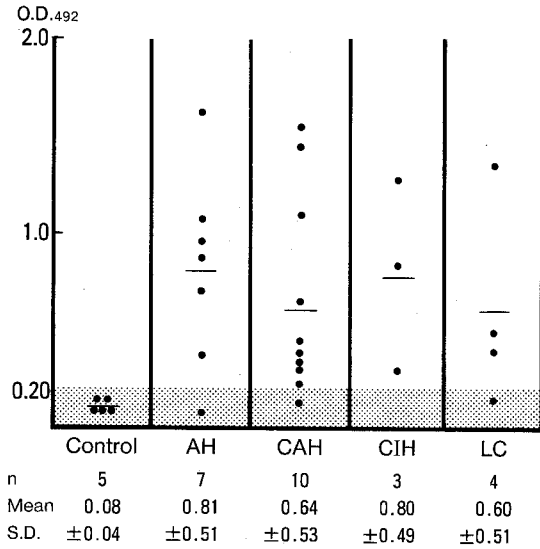


Fig. 8 IgA anti-HBc levels in cultured media of PBL from patients with hepatitis B virus infection and from healthy controls.

3.3 末梢血リンパ球培養上清中のIgA型HBc抗体活性

3.3.1 IgA型HBc抗体価

PBL培養上清中に産生されるIgA型HBc抗体の力価を測定し、その結果をFig. 8に示した。健康対照の平均+3 S.D. (O.D. 0.20)を正常域とすると、正常域以上を示したのはAH 6/7, CAH 9/10, CIH 3/3, LC 3/4であった。

3.3.2 IgA型HBc抗体の分子性状

PBL培養上清でIgA型HBc抗体が高力価を示したAH 2例, CAH 3例についてその分子性状を検討した。Fig. 9にはその代表例のHPLC溶出曲線を示した。AHにおけるIgA型HBc抗体の分子性状は、一部m-IgAに抗体活性は認められるもののその主体はp-IgAに存在した。一方、CAHにおけるIgA型HBc抗体活性の主体はm-IgAに存在した。すなわちAHおよびCAHのPBL培養上清中のIgA型HBc抗体は、それぞれ血清IgA型HBc抗体の分子性状と同様のパターンを示した。

4 考 察

ウイルス肝炎におけるIgA型抗体については、Yosizawa *et al.*⁹⁾がA型肝炎患者の糞便中にIgA型HA抗体を検出したことに始まり、続いて著者ら⁹⁾およびSikuler *et al.*¹⁰⁾が血清中にもIgA型HA抗体が存

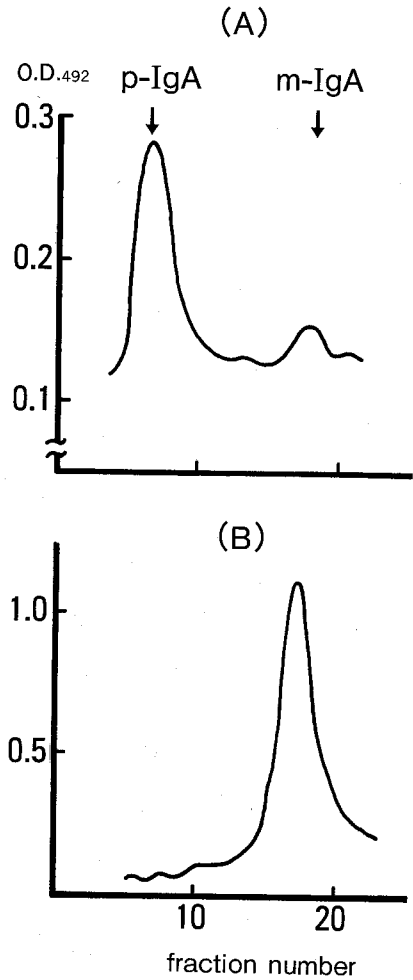


Fig. 9 HPLC elution patterns of IgA anti-HBc in cultured media of PBL from patients with acute hepatitis (A) and chronic active hepatitis (B).

在することを明らかにした。IgA型HBc抗体については、菅ら¹¹⁾が既にその測定法を考案した。本研究においては、B型肝炎における血清中のIgA型HBc抗体の出現頻度と動態、およびその分子性状を観察した。さらにPBLがHBc抗体産生能を有することを明らかにし、そのIgA型抗体の分子性状についても検討した。

まず、血清中のIgA型HBc抗体を測定すると、HBVの一過性感染および持続感染において高率に検出されたが、このうち肝病変の存在しないASCではその抗体価は極めて低値であった。この点、野村ら¹²⁾も他のB型慢性肝疾患群に比し、ASCのIgA型HBc抗体価が有意に低いと述べ、同様の成績を示している。

このIgA型HBc抗体の動向は、IgG型HBc抗体の

それとは異なる。すなわち IgG 型 HBc 抗体は B 型慢性肝炎および ASC において高値を示すことが知られている¹³⁾。

本研究では同時に HBe 抗原陽性群が、同陰性群と比較して IgA 型 HBc 抗体価が有意に高値であることも明らかにし得た。肝病変の存在しない ASC において、IgA 型 HBc 抗体が低値であることを考えると、本抗体の出現は、肝炎の組織学的活動性および HBV の活動性を反映しているものと推測された。

つぎに、肝炎の経過に伴う IgA 型 HBc 抗体の変動について検討したが、AH では急性期に高い抗体活性を示し、肝炎の回復にともない陰性化し、IgM 型 HBc 抗体と類似の変動を示した。これに対し CAH では経過を通じて高い抗体価が持続し、IgG 型 HBc 抗体の変動と類似することが明らかになった。

ウイルス感染症では感染初期にウイルスに対する IgM 型抗体が、続いて IgG 型抗体が血清中に出現することが知られているが、IgA 型抗体の出現時期については必ずしも十分に検索されていない。ウイルスの一過性感染における IgA 型抗体については、風疹において IgM 型抗体に類似の変動を示すことが報告されており^{4,5)}、われわれの A 型肝炎における観察でも、IgA 型 HA 抗体は IgM 型 HA 抗体と類似の変動を示すことが明らかにされている⁹⁾。さらに、持続感染については、nasopharyngeal cancer の患者において EB ウイルスの capsid antigen に対する IgA 型抗体が高値を持続するという報告¹⁴⁾がある。これらの報告と本研究の成績を考え合わせると、IgA 型抗体産生は、ウイルスの一過性感染では IgM 型抗体産生に類似した一次免疫応答の様相を示し、一方持続感染では IgG 型抗体産生に類似した二次免疫応答の様相を呈するという二面性をもつということができよう。

われわれは既に A 型肝炎において IgA 型 HA 抗体は p-IgA が主体を占めることを認めているので⁹⁾、HBV の感染様式の違いにより IgA 型 HBc 抗体がいかなる分子性状を示すか、またいかなる変化を示すか、を検索することは興味ある問題である。そこで血清中の IgA 型 HBc 抗体を HPLC で分析することにより、HBV の一過性感染では p-IgA 型抗体が、持続感染では m-IgA 型抗体がその抗体活性の主体を成すことを明らかにし得た。

ウイルスに対する IgA 型抗体の分子性状を分析した報告は少ないが、前述のように A 型肝炎における IgA 型 HA 抗体は、全経過を通じて p-IgA が主体であり⁹⁾、風疹、麻疹、水痘の急性ウイルス感染でも p-IgA が

IgA 型抗体の主体であると報告されている¹⁵⁾。一方、持続感染のモデルとしては、tetanus toxoid ワクチンの初回接種から 5~20 年後の再接種時の IgA 型抗体の分析において、初期に p-IgA および m-IgA 型抗体が反応し、前者は急速に減少するのに対し、後者は持続するという¹⁶⁾。

これらのことから、ウイルスあるいは細菌の一過性感染と持続感染では、IgA 型抗体産生における p-IgA を産生する細胞と、m-IgA 産生細胞の関与に差があるのではないかと推測される。すなわち、HBV の場合には、その一過性感染である AH では、一次免疫応答として p-IgA 産生細胞が反応し、memory 細胞を残して抗体産生が減衰するが、HBV の持続感染で抗原刺激が持続する CAH では、二次免疫応答で IgM から IgG に変換するように、IgA 系においては p-IgA 産生から m-IgA 産生へと移行し、後者を主体とする抗体産生が行なわれるようになるものと推測された。

この点 polymer 型抗体産生に関して J 鎖の意義はまだ十分明らかではないが、J 鎖は B 細胞が免疫グロブリン産生細胞へ分化するごく初期から存在していることから、Brandtzaeg¹⁷⁾ はこれらの細胞を J chain positive IgA blast と呼んでおり、IgA 産生細胞の分化・成熟との関連性を示唆している。今後は、一次および二次免疫応答に関連して、p-IgA および m-IgA 抗体の産生が見られる機序を、p-IgA 産生に関わる J 鎖合成の問題と関連して検討する必要がある。

IgM 型 HA 抗体については、本来 19 S IgM 分子も J 鎖を含む polymeric Ig であるが、最近その性状に違いのあることが明らかにされている¹⁸⁾。

また IgM 型 HBc 抗体でも同様に IgM 分子性状の違いがあり、AH において 19 S IgM が、CAH において 7 S IgM がその抗体活性の主体であることが報告され、抗体の分子性状の差異を利用して HBV の一過性感染と持続感染を鑑別する試みがある¹⁹⁾。しかし、持続感染において 19 S IgM が主体であるという報告もみられ^{20,21)} 一致した見解が得られておらず、IgM 型 HBc 抗体の分子性状から AH と CAH を鑑別するのは困難といわざるを得ない。それゆえ、HBV の感染病態の推定には、本研究の結果から明らかのように、IgA 型 HBc 抗体の分子性状の差異を用いるほうが、より有用と考えられる。

つぎに、HBV の感染様式により、産生される IgA 型 HBc 抗体の分子性状が p-IgA と m-IgA に明確に異なることから、IgA 型 HBc 抗体の産生部位を追究する必要がある。

IgA の産生部位に関するこれまでの報告をまとめると、p-IgA は gut-associated lymphoid tissue (GALT) をはじめとする粘膜リンパ組織、m-IgA は一部は粘膜リンパ組織に由来するが大部分は骨髄などのリンパ組織に由来すると考えられている^{6,22,23)}。

しかし、HBc 抗体活性を有する IgA 産生細胞を検索することは手技的にも、組織材料を臨床的に十分採取することも容易ではない。それゆえ、HBc 抗体の産生部位の検索には限界がある。そこで本研究においては採取しやすい PBL を用いて HBc 抗体産生を検討した。

すなわち、B 型肝炎患者の PBL を PWM 刺激下に培養し、IgA 型 HBc 抗体の産生とその分子性状を分析した。その結果、培養上清中に IgA 型 HBc 抗体が検出された。さらに AH 患者 PBL の培養上清中に検出される IgA 型 HBc 抗体は p-IgA が主体で、CAH 患者 PBL の培養上清中のそれは m-IgA が主体であった。つまり、それぞれの病態において、PBL の産生する IgA 型抗体の HPLC 溶出パターンからみた分子性状は、血清抗体の分子性状に符号することを認めた。

PBL が抗体を流血中で産生するとは考え難いが、少なくとも一部の PBL は IgA 型 HBc 抗体を産生する前駆細胞であろうと推測される。また、PBL の産生する非特異的 IgA は p-IgA が優位を占めるもの⁶⁾、IgA を抗体活性の面からみれば、p-IgA 型抗体と m-IgA 型抗体を産生する二群のクローンが PBL に存在し、HBV の一過性あるいは持続感染において、それらのいずれかが優勢に存在するものと推測された。

これらの PBL 中の抗体産生前駆細胞が感作される部位や、それが定着・分化し抗体を産生する部位としても最も重要と考えられるのは肝である。われわれも肝生検組織で免疫組織学的手法によって IgA の分布を検討中であるが、名倉ら²⁴⁾ は慢性肝炎において類洞、門脈域および中心静脈域に IgA の沈着が認められるが、肝組織中の IgA 産生細胞は少数であったとしている。しかし、肝全体における抗体産生が相当量に達することは否定できないので、なお検討を要すると考えられる。

教室では、これまで慢性肝疾患における高 IgA 血症の発症機序について、食餌抗原や LPS 等の外来抗原に対する血中 IgA 型抗体を解析し、p-IgA 型抗体の増加が消化管粘膜における産生と肝障害による IgA の代謝遅延によることを明らかにしてきた^{25,26)}。しかし、特異的な HBc 抗体の産生は、HBc 抗原の分布からみて上述の外来抗原の場合とは当然異なるものと考えられる。嵐⁹⁾ が観察したように、骨髄リンパ球の産生する IgA は m-IgA が主体であるとしても、HBV 持続感染時に特

異的 HBc 抗体が骨髄で産生されるという証明はない。この点臨床的には骨髄リンパ球を採取する機会がなく検索しえなかったが、その他のリンパ組織や肝のリンパ球の HBc 抗体産生とともに今後検討すべき課題と考えられる。

さらに、HBc 抗体の意義について考察する。HBc 抗体は感染抗体で HBV の排除に関与しないと考えられているが、その対応抗原である HBc 抗原は cytotoxic T cell の認識する HBV 感染肝細胞の target として注目されてきている^{27,28)}。また、Tagliabue *et al.*²⁹⁾ は IgA を mediator とした antibody dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC) も起こり得ることを示唆している。もし、これらが事実とすれば、IgA 型 HBc 抗体は単なる感染抗体ではなく、直接炎症の場に関与する病因的意義を有する抗体である可能性もでてくる。これらの点は、本研究において IgA 型 HBc 抗体は組織学的に肝障害が存在しない ASC において低値であり、IgA 型 HBc 抗体の上昇は肝障害と密接な関係にあることを示す成績からみて、今後追究すべき課題と考えられる。

要 約

B 型肝炎における血清中の IgA 型 HBc 抗体の出現頻度とその動態、および IgA 型 HBc 抗体の分子性状とその産生部位について検討し、以下の結論を得た。

- 1) CORZYME-M キットを応用し、特異性の高い IgA 型 HBc 抗体の測定系を開発した。
- 2) IgA 型 HBc 抗体は HBs 抗原陽性の肝疾患においてのみ検出された。
- 3) HBc 抗体陽性健康対照における IgA 型 HBc 抗体価の平均+3 SD 以上を呈する場合を抗体陽性とする、ASC 89%、AH 100%、CAH 95%、CIH 94%、LC 100% に IgA 型 HBc 抗体が検出されたが、その抗体価は ASC において極めて低値であった。また、HBe 抗原陽性群は同陰性群に比較して IgA 型 HBc 抗体価は有意に高値であった。これらのことから、IgA 型 HBc 抗体は肝炎の組織学的活動性を反映する新しい HB ウイルスマーカーと考えられた。
- 4) IgA 型 HBc 抗体は、急性肝炎では肝炎の経過中 IgM 型 HBc 抗体に類似した変動を示し陰性化し、慢性肝炎では IgG 型 HBc 抗体に類似した変動を示し高抗体価を持続した。
- 5) HBV の一過性感染では polymer 型 IgA が、持続感染では monomer 型 IgA が血清 IgA 型 HBc 抗体

の抗体活性の主体であった。このIgA型HBc抗体の分子性状の差異を応用して、HBウイルスの一過性感染と持続感染を鑑別することが可能であった。

- 6) 患者末梢血リンパ球のPWM培養上清中にはIgA型HBc抗体が高頻度に産生された。その分子性状は一過性感染ではpolymer型IgA, 持続感染ではmonomer型IgAが主体をなし、末梢血リンパ球の産生するIgA型HBc抗体の分子性状は血清IgA型HBc抗体の分子性状に符合した。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲をいただいた谷内 昭教授に深謝いたします。また、研究に御協力いただいた赤保内良和博士をはじめ、教室の諸先生に深謝いたします。

文 献

- Almeida, J. D., Rubenstein, D. and Stott, E. J.: New antigen-antibody system in Australia-antigen-positive hepatitis. *Lancet* **2**, 1225-1227 (1971).
- Niermeijer, P., Gips, C. H. and Huizenga, J. R., Ringes, J., Verkerk, S., Houthoff, H. J., Houwen, B., Snijder, A. M. and Nielsen, J. O.: IgM-anti-HBc as a marker of persistent and IgG-anti-HBc as a marker of past hepatitis B infection. A longitudinal study 5 years. *Acta Hepato-Gastroenterol.* **25**, 360-364 (1978).
- Tedder, R. S. and Wilson-Croome, R.: Detection by radioimmunoassay of IgM class antibody to hepatitis B core antigen. *J. Med. Virol.* **6**, 235-247 (1980).
- Bürgin-Wolff, A., Hernandez, R. and Just, M.: Separation of rubella IgM, IgA, and IgG antibodies by gel filtration on agarose. *Lancet* **2**, 1278-1280 (1971).
- Cradok-Watson, J. E. and Ridehalgh, M. K. S.: Immunoglobulin responses after rubella infection. *Ann. NY Acad. Sci.* **254**, 385-393 (1975).
- 嵐 方之: 血清IgAおよびリンパ球培養上清中のHeterogeneityの解析。とくに血清IgAの産生起源について。 *札幌医誌* **51**, 207-224 (1982).
- 赤保内良和, 松谷茂幸, 川上康博, 鈴木 隆, 嵐 方之, 谷内 昭: 慢性活動性肝炎および肝硬変症における高免疫グロブリン血症。 *消化器と免疫* **5**, 222-227 (1980).
- Yosizawa, H., Ito, Y., Iwakiri, S., Tsuda, F., Nakano, S., Miyakawa, Y. and Mayumi, M.: Diagnosis of type A hepatitis by fecal IgA antibody against hepatitis A antigen. *Gastroenterology* **78**, 114-118 (1980).
- 菅 充生, 赤保内良和, 嵐 方之, 笹浪哲雄, 吉崎榮泰, 藤田英雄, 池辺満夫, 谷内 昭: A型肝炎におけるIgA型抗体の動態。 *肝臓* **23**, 9-14 (1982).
- Sikuler, E., Keynan, A., Hanuka, N., Friedman, M. G. and Sarov, I.: Detection and persistence of specific IgA antibodies in serum of patients with hepatitis A by capture radioimmunoassay. *J. Med. Virol.* **11**, 287-294 (1983).
- 菅 充生, 大嶋哲夫, 赤保内良和, 阿部 敬, 吉崎榮泰, 谷内 昭: B型肝炎におけるIgA型HBc抗体の検出。 *肝臓* **25**, 422 (1984).
- 野村元積, 古田精市, 赤羽賢浩, 立花克己, 白田定和: B型肝炎ウイルスキャリアーにおけるIgA class anti-HBcの臨床的意義。 *肝臓* **25**, 470-476 (1984).
- 鈴木 宏, 三田村圭二, 平沢 堯: 急性B型肝炎の一過性感染例と持続感染例の比較。 *犬山シンポジウム記録刊行会編集: 第10回犬山シンポジウム 肝 in siteにおける反応論*, 3-10, 中外医学社, 東京 (1979).
- Henle, G. and Henle, W.: Epstein-Barr Virus-specific IgA serum antibodies as an outstanding feature of nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Cancer* **17**, 1-7 (1976).
- Ponzi, A. N., Merlino, C., Angeretti, A. and Penna, R.: Virus-specific polymeric immunoglobulin A antibodies in serum from patients with rubella, measles, varicella, and herpes zoster virus infections. *J. Clin. Microbiol.* **22**, 505-509 (1985).
- Mascart-Lemone, F., Duchateau, J., Conley, M. E. and Delacroix, D. L.: A polymeric IgA response in serum can be produced by parenteral immunization. *Immunology* **61**, 409-413 (1987).
- Brandtzaeg, P.: Role of J chain and secretory component in receptor-mediated glandular and hepatic transport of immunoglobulins in man. *Scand. J. Immunol.* **22**, 111-146 (1985).
- 横田勝至, 菅 充生, 佐藤喜夫, 小玉俊典, 平根敏光, 赤保内良和, 谷内 昭: A型肝炎における低分子(7S) IgM型HA抗体の出現とその意義。 *肝臓* **28**, 863-868 (1987).
- Tsuda, F., Naito, S., Takai, E., Akahane, Y., Furuta, S., Miyakawa, Y. and Mayumi, M.: Low-molecular-weight (7s) immunoglobulin M antibody against hepatitis B core antigen in the serum for differentiating acute from persistent hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* **87**, 159-164 (1984).
- Sjogren, M. H., Bancroft, W. H., Hoofnagle, J.

- H., Sosebee, J. L. and Lemon, S. M.: Clinical significance of low molecular weight (7-8S) immunoglobulin M antibody to hepatitis B core antigen in chronic hepatitis B virus infections. **Gastroenterology** **91**, 168-173 (1986).
21. 菅 充生, 横田勝至, 小玉俊典, 平根敏光, 赤保内良和, 谷内 昭: IgM型HBc抗体の分子性状の検討. **肝臓** **28**, 1423-1427 (1987).
22. Kutteh, W. H., Koopman, W. J., Conley, M. E., Egan, M. L. and Mestecky, J.: Production of predominantly polymeric IgA by human peripheral blood lymphocytes stimulated *in vitro* with mitogens. **J. Exp. Med.** **152**, 1424-1429 (1980).
23. Benner, R., Hijmans, W. and Haaijman, J. J.: The bone marrow: The major source of serum immunoglobulins, but still a neglected site of antibody formation. **Clin. Exp. Immunol.** **46**, 1-8 (1981).
24. 名倉 宏, 渡辺慶一, 長谷川英章, 杉本栄一: 肝, 胆道系における免疫グロブリンならびに secretory component の局在とその病理学的意義. **消化器と免疫** **4**, 117-122 (1980).
25. 松谷茂幸, 赤保内良和: 慢性肝疾患における高免疫グロブリン血症, とくに高IgA血症の機序に関する研究. 外来抗原に対する抗体産生の面から. **札幌医誌** **51**, 301-317 (1982).
26. 大嶋哲夫: ヒト胆汁および血清中 Secretory IgA に関する研究. 血清IgAの胆汁への輸送機構と血清 Secretory IgAの増量について. **札幌医誌** **54**, 233-248 (1985).
27. Mondelli, M., Vergani, G. M., Alberti, A., Vergani, D., Portmann, B., Eddleston, A. L. W. F. and Williams, R.: Specificity of T lymphocyte cytotoxicity to autologous hepatocytes in chronic hepatitis B virus infection: Evidence that T cells are directed against HBV core antigen expressed on hepatocytes. **J. Immunol.** **129**, 2773-2778 (1982).
28. Vento, S., Hegarty, J. E., Alberti, A., O' Brien, C. J., Alexander, G. J. M., Eddleston, A. L. W. F. and Williams, R.: T lymphocyte sensitization to HBcAg and T cell-mediated unresponsiveness to HBsAg in hepatitis B virus-related chronic liver disease. **Hepatology** **5**, 192-197 (1985).
29. Tagliabue, A., Nencioni, L., Villa, L., Keren, D. F., Lowell, G. H. and Boraschi, D.: Antibody-dependent cell mediated antibacterial activity of intestinal lymphocytes with secretory IgA. **Nature** **306**, 184-186 (1983).

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学内科学第1講座 横田勝至