

肝与免疫

〔日〕 长岛秀夫
程福珍

浪久利彦
张豪

山本佑夫
张蓓宁

编译



人民军医出版社

018678

90688

肝 与 免 疫

GAN

YU

MIAN

YI

长岛秀夫
〔日〕 浪久利彦 编
山本祐夫

程福珍 张 豪 张蓓宁 译
宋喜秀 张 豪 校



018678 /R371CDX



C0070910



人民军医出版社

1986·北京

长岛秀夫 浪久利彦 山本祐夫 編集

肝と免疫——免疫性肝障害を中心に——

医歯薬出版株式会社(1984年8月)

肝 与 免 疫

〔日〕 长岛秀夫等编

程福珍 等译

人民军医出版社出版

(北京市复兴路22号甲3号)

三河县马起乏印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

开本:787×1092毫米1/16·印张:11.25·字数:269千字

1986年8月第1版 1986年8月(北京)第1次印刷

印数:1——11,000

统一书号:14281·041 定价: 2.60元

〔科技新书目:114—78〕

译 者 的 话

近年来免疫学的迅速发展已渗透到基础医学和临床医学的各个学科中，围绕肝病的免疫学研究也在稳步地前进。本书由日本长岛秀夫等编著，以免疫性肝损害为中心全面介绍了肝脏与免疫的最新研究成果和进展。内容包括肝脏损害、急慢性肝炎、肝硬化发病机制、肝肿瘤等与免疫学的关系，阐述了免疫学研究的原理和方法以及如何开展科研、教学、预防和治疗等问题。

本书共分19个专题，重点对免疫学基础、免疫学诊断、免疫学的防治等方面知识的进展，以图文并茂，循序渐进的方式加以论述。这是一本国内外最新的全面而系统地介绍肝脏与免疫这一新知识领域的书籍，内容新颖丰富，文字简明易懂，图表一目了然。阅后可进一步开拓免疫学知识，深入对肝脏的研究和探讨，促进免疫学的发展，是临床医师、医学院校教师、本科生、研究生以及从事免疫学工作和有关科研与检验人员的一本实用而有益的参考书。书后附有与本书有关的英汉词汇对照表，便于阅读时查对。

本书的出版，承蒙人民军医出版社的大力协助，三〇七医院姚荻院长、三〇二医院领导、陈菊梅主任军医、杨守纯主任、可明主治军医、江苏公安医院周焰军医等给予诚挚的支持和帮助，并对部分译文进行了审阅，使本书更加符合原意，在此一并致以衷心的感谢。

由于译者水平所限，错误之处，敬请前辈及读者批评指正。

译 者

1985年9月 北京

序 言

第69届日本消化系疾病学会总会（会长山本祐夫）于1983年4月在大阪市召开。

本次会议选择“免疫性肝损害”及“肝脏免疫”的部分论文，作了重点学术讨论，并且把“肝脏与免疫——免疫性肝损害”作为重点整理成书。

近年来，由于免疫学的迅速发展，围绕肝脏疾病的免疫学研究也在稳步前进。本书的内容如实地反映了这方面的研究成果。

从活化巨噬细胞产生的白细胞介素-1，继之从活化淋巴细胞（辅助性T细胞）产生的是白细胞介素-2等液性活性物质，从而调节各种免疫细胞机能，形成免疫反应网。还对肝疾患及其细胞间的相互作用进行了探讨，使我们进一步了解免疫细胞的各种活化过程障碍的机制。特别是承担免疫反应最初阶段的巨噬细胞的各种机能及作用，迄今仍有许多不明之处，这些将是今后研究的课题。

这个领域的研究是对慢性肝疾病的免疫异常状态，应用免疫调节物质治疗的免疫疗法直接结果，是今后重要的研究课题。最近，由于单克隆抗体的问世，可以同时确定患病肝脏局部浸润性的免疫细胞，特别是由于免疫电镜对有关浸润淋巴细胞和肝细胞的相互作用关系的研究，打开了形态学上免疫性肝损害的研究道路，为分析患病肝脏局部的免疫反应给予了多方面的提示。我们认为，作为自身免疫性肝损害的机制，抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）的可能性是大的。因此，要重视肝细胞的抗原，肝特异性抗原及抗肝细胞膜抗体，肝特异抗体的分析和检测，在这个研究领域中，日本取得了独特的成果。

关于血中抗体，在肝疾患的免疫复合物的临床意义正逐步研究。从免疫学的观点，肝疾患特有病变的急性肝内胆汁郁滞是研究的方向。日本科研人员已开展这项研究工作，即从活化T淋巴细胞中产生的含淋巴激素的促胆汁郁滞因子引起的急性肝内胆汁郁积的研究，与胆汁郁滞的新理论相结合和有关“肝脏与免疫”作为国际性的研究成果被高度重视。在慢性肝内胆汁郁滞中，有代表性的是原发性胆汁性肝硬化（primary biliary cirrhosis, PBC），PBC的免疫学说，日本也在研究。

此外，肝纤维化是和以前的胶原代谢生物化研究一起进展的，新的免疫学机制的研究也是1个值得注意的趋势。

通过本书可以清楚地了解目前有关“肝脏与免疫”的最新研究和进展，掌握有关肝炎的发病，慢性化的机制，病变的形成及解释免疫学研究的要点，将能提供进行预防及治疗的线索。

向各位执笔作者表示感谢，并预祝今后取得更显著的成绩。

大阪市立大学医学部第三内科教研室教授 山本祐夫

岡山大学医学部第一内科教研室教授 长岛秀夫

顺天堂大学医学部消化系内科教研室教授 浪久利彦

1984年8月

编 者 的 话

我们以第69届日本消化道学会总会的专题论文集为基础, 编集了免疫性肝损害一书。

本书就免疫性肝损害这一专题又增加了若干重要内容。而且, 根据专题讨论会后的新观点, 请各位执笔纵观日本免疫性肝损害现状。如果本书能够对各位读者在今后的研究有所启示, 是值得庆幸的。

一、本书是围绕免疫性肝损害等问题从体液及细胞免疫两方面进行论述的。作为研究对象的疾患涉及急性病毒性肝炎和慢性病毒性肝炎, 类狼疮样肝炎, 急性肝内胆汁郁积及慢性肝内胆汁郁积, 原发性胆汁性肝硬化和肝硬化等。

二、众所周知, 识别T细胞抗原的方法有两种假说, 一种是改变自身的模型, 另一种是双重识别模型。即使是细胞损害在体内和体外的假说问题, 在本书中这一问题也是首先显示了肝组织水平的研究, 在此基础上应用免疫电镜技术进一步研究了肝细胞内乙型肝炎病毒(HBV)有关抗原及肝细胞结合免疫球蛋白G(IgG), 而且论述了乙型慢性肝炎中的肝细胞膜结合免疫球蛋白G的细胞损害的可能性。

三、另一方面, 由于抗体依赖性细胞介导的细胞毒(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)引起的肝细胞损害, 根据微噬体依存性的ADCC以及调节抗体ADCC有关的性激素等, 微噬体的K细胞调节机制已成为研究课题。K细胞的调节因子在机体内是复杂的, 可是, 我们只清楚而仔细地观察了它的一个侧面。

进一步详细地论述了微噬体T细胞及T细胞间的调节。也就是说, 把自身混合淋巴细胞反应(autologous mixed lymphocyte reaction, AMLR)的这种现象作为典型模型, 用体外的方法分析细胞间相互作用。

另外, 在慢性肝疾患的发展过程中, 对细胞免疫及其调节机制和ADCC的活性及其调节因子, ADCC的效应细胞, ADCC的活化和与肝细胞膜抗原的关系都进行了探讨。

四、再次, 通过致敏性淋巴细胞转移对小鼠肝损害发病机制进行研究中发现了肝损害是以细胞免疫为主, 但是, 还要考虑与体液免疫有复杂的关系。

五、一方面, 研究了在慢性肝疾病具有多种机能的白细胞介素-1的单细胞的分泌动态的临床研究结果, 推测, 单细胞免疫调节异常不是慢性肝疾病免疫异常的主要原因。

六、另一方面, 在免疫性肝损害的血清及肝可溶性部分中植物凝集素作用幼稚化反应和存在着控制抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)的因子, 并详述其性状等有意义的课题。

七、从各个方面研究了抗肝细胞膜抗体, 分析了在该抗体结合的肝细胞膜上的特异性抗原和阐明了肝细胞膜结合抗体的病因意义及其肝细胞膜抗原的特异性中, 含有可溶性和不可溶性肝细胞膜抗原, 还详细阐述了研究现状, 这些都是目前将被重视的课题。

八、在循环免疫复合物(CIC)中与病毒相关抗原的确定及其肝外病变的发生机制以及其病毒排除的机制等, 循环免疫复合物(CIC)的临床意义正被人们重视。

指出肝疾患的血清分泌免疫球蛋白A(IgA)增加的机制是由于胆汁郁积逆流相关及其病理生理学上的意义。

九、在原发性胆汁性肝硬化 (PBC) 中, 探索了在毛细胆管腔中线粒体出现的机制, 并阐述了抗线粒体的病因意义的重要性。而且研究了对于肝内胆管先天性抗原对体液及其细胞免疫的成立和在本症中多腺性外分泌腺异常症的发现和与自身免疫现象相关的可能性。进一步阐明了原发性胆汁性肝硬化 (PBC) 发病的遗传性的重要原因及后天性因子等有意义的见解。

在药物或者病毒引起的急性肝内胆汁郁滞的发生机制中, 在分析药物或者病毒使致敏性淋巴细胞分泌的促进胆汁郁滞因子时, 在培养肝细胞系中, 发现微丝异常, 结果导致毛细胆管弛缓性扩张等肝内胆汁郁滞的实验模型, 提示了有意义的要点, 对于今后在毛细胆管膜的性状和机能损害的研究方面也提供了丰富的内容。

十、关于慢性肝炎纤维化的进展, 由于病毒性抗原、肝特异性抗原预先产生的致敏淋巴细胞相关的巨噬细胞活化因子, 并且, 据此论述了活化的巨噬细胞释放出纤维母细胞增殖因子, 而促进纤维母细胞的增殖和胶原蛋白的合成, 使用放射线探测仪作为检测肝纤维化的手段, 论述了血中溶胶原蛋白肽的重要性。

其中作为肝细胞损害的效应器的无抗原特异性的自然杀伤细胞, 本书几乎未包含这一内容, 但在慢性肝炎中的天然杀伤细胞的活性也未取得成果。即有自然杀伤细胞活性低下的结果, 也有上升的结果。

本书中重点罗列了围绕免疫性肝损害的重要问题, 但是当考虑到乙型慢性肝炎的慢性化及其可能影响以后的癌变时, 虽然乙型肝炎病毒的 (HBV) 增殖过程尚不清楚, 但乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸组合入肝细胞也是最近的问题, 可能必须对此进一步详细地进行研究。

本书的内容是在执笔的诸位先生协助完成的, 他们都是当今活跃在第一线上的优秀研究人员。这本书问世对于从事肝与免疫方面工作的同道, 将会受益不浅, 如果能为读者今后的研究提供一点启示的话, 那么, 就这一点也是我们值得庆幸的。

长岛秀夫 浪久利彦 山本祐夫

1984年8月

目 录

译者的话

序 言

编者的话

一、抗体依赖性细胞介导的细胞毒反应引起肝细胞损害的机制	沟口靖雄等..... 1
(一) 效应细胞	1
1. K细胞群	1
2. K细胞产生分泌的化学介体	1
3. 影响 ADCC 反应的各种因子	2
(1) 血清因子的影响	2
(2) 性激素的影响	3
4. 巨噬细胞的参与	4
(二) 抗体	6
(三) 靶细胞	7
(四) 结论	9
二、肝损害时的各种免疫细胞的功能及其相互间的作用	新上哲生等..... 10
(一) 肝损害时的各种免疫细胞的功能	10
1. 各种免疫细胞及其功能分析法	10
(1) 非特异性免疫功能分析法	10
(2) 特异性免疫功能分析法	10
2. 对肝病患者淋巴细胞的各种致有丝分裂的反应性研究	10
3. 有关肝病患者的T细胞功能的研究	11
4. 对肝病患者B细胞功能的研究	12
5. 对肝病患者单核细胞功能的研究	14
(二) 肝损害时细胞间相互作用的研究	16
1. 在试管内细胞间相互作用研究的模型	16
2. 肝病患者的自体混合淋巴细胞的反应功能	16
3. 肝病患者A M L R的反应系统	17
(三) 结论	18
三、慢性肝疾患淋巴细胞毒的调节	冈部和彦等..... 20
(一) 对象和方法	20
1. 淋巴细胞的分离	20
2. 分离洗涤淋巴细胞的培养	20
3. ADCC活性的测定	20
(1) Microplate法(微平板法)	20
(2) 放射性 ⁵¹ 铬释放检测法	20
4. 粘附抑制试验	21
5. 肝细胞膜的分离	21
6. 用刀豆素A刺激淋巴细胞培养上清液的葡聚糖凝胶G-150的化学分析法	21
7. 血小板、单核细胞的分离及其吸收中和作用	21
8. T细胞及非T细胞的分离	22
(二) 结果	22
(三) 讨论	25
(四) 结论	26
四、慢性肝疾病患者的单核细胞免疫调节功能异常 —— 末梢血单核细胞培养上清液中白细胞介素-1的活性	坂本茂等..... 27
(一) 对象和方法	27
1. 对象	27
2. 脂多糖(LPS)刺激单核细胞培养上清液的制备	27
(1) 记录 1	28
(2) 记录 2	28
3. 白细胞介素-1活性的测定	28
(1) 将C ₃ H/HeJ小白鼠胸腺细胞放入RPMI 1640液中进行悬浮培养	28
(2) 白细胞介素-1活性的测定	28
4. 脂多糖(LPS)刺激单核细胞培养上清液的胰蛋白酶处理	28
(二) 结果	28
1. 患者(表3, 4)	28
2. 脂多糖刺激单核细胞培养上清液中白细胞介素-1的活性	28
3. 最后加入抗炎吲哚酸时, 脂多糖刺激单核细胞培养上清中的白细胞介素-1活性指数	30
4. 抗炎吲哚酸加入时脂多糖刺激单核细胞培养上清液中的白细胞介素-1活性指数阳性	31
(三) 讨论	32

(四) 结论	33
五、免疫电镜对乙型肝炎肝细胞和淋巴细胞浸润之间相互作用的研究 ——小岛隆等	34
(一) 淋巴细胞与肝细胞之间的相互作用	34
(二) 有乙型肝炎病毒(HBV)肝细胞与淋巴细胞的相互作用	35
1. 普通电镜观察	35
2. 应用酶抗体法的探讨	35
六、致敏淋巴细胞转移诱发小白鼠发生肝损害——细胞性免疫的参与 ——森义雄等	39
(一) 肝损害的体液及细胞免疫作用	39
(二) 动物的实验肝炎模型	40
(三) 致敏淋巴细胞转移诱发小白鼠肝损害——细胞免疫的参与	40
1. 小白鼠实验肝炎的制作	40
(1) 动物及方法	40
(2) 肝炎小白鼠肝组织变化及体液、细胞免疫的检查	41
2. 致敏淋巴细胞转移诱发小白鼠肝损害发生——细胞免疫的参与	43
(1) 动物及方法	43
(2) 接受实验的小白鼠肝损害的发生及细胞、体液免疫的研究	43
(3) 致敏脾细胞转移诱发肝损害的细胞免疫的研究——抗T细胞抗体诱发肝损害的抑制	44
3. 致敏淋巴细胞转移诱发肝损害——细胞免疫的作用	45
(四) 讨论	46
七、肝细胞膜抗原的性状及其血中抗体的意义 ——有马晖胜等	47
(一) 肝特异性抗原和特异抗血清的制备	47
(二) 以抗体依赖性细胞介导的细胞毒性试验A D C C检测肝细胞特异性脂蛋白—1和T H G P抗体	49
(三) 用酶免疫法检测血肝细胞膜特异性脂蛋白—1抗体肝细胞膜抗原(L C m)抗体及Tamm—Horsfall糖蛋白(T H G P)抗体	50
(四) 结论	53
八、自家免疫性肝病患者的血清中的抗肝细胞膜抗体及其靶抗原——关于其脏器特异性 ——池田有成等	54
(一) 对象	54
(二) 方法	54
1. 家兔肝细胞(R L P M)的分离	54
2. 家兔肝细胞膜的可溶性	54
3. 蛋白A和家兔肝细胞膜(R L P M)的标记	54
4. 肌动蛋白的分离	55
5. 肾脏颗粒部分	55
6. 被验血清的肌动蛋白和肾脏颗粒部分的吸收	55
7. 抗肝细胞膜抗体的检出	55
8. 十二烷基硫酸钠—聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS—PAGE)	56
9. 用免疫印染法分析靶抗原	56
10. 用免疫亲和色谱法精制靶抗原	57
(三) 结果	57
1. 抗肝细胞膜抗体的阳性率	57
2. 用免疫印染法(immunoblotting)分析抗肝细胞膜抗体的靶抗原	58
3. 通过免疫亲和色谱法精制靶抗原	58
(四) 讨论	59
九、非乙型慢性活动性肝炎抗肝细胞膜特异性抗体(anti—LM)的特异性和细胞损害性 ——辻孝夫	60
(一) 关于抗肝细胞膜抗体的研究方法	60
1. 抗肝细胞膜抗体的检测方法	60
2. 抗肝细胞膜特异性抗体和抗肝特异性脂蛋白抗体的特异性的研究方法	60
3. 抗肝细胞膜特异性抗体临床意义的分析	61
4. 肝细胞膜抗原性状的分析	61
(二) 对患者血中抗肝细胞膜抗体的大白鼠肝细胞反应的观察结果	61
(三) 用酶联免疫吸附法检测抗肝细胞膜特异性抗体(anti—LM)的效价结果	61
(四) 应用酶联免疫吸附法检测患者血清中的抗	

肝细胞膜特异性抗体的特异性.....62	病例) 抗肝细胞膜抗体的结果.....66
(五) 用荧光抗体法检测肝细胞膜抗原和肝特异性脂蛋白的部位.....64	(九) 肝炎急性恶化前后和给予类固醇激素前后的抗肝细胞膜特异性抗体效价结果.....67
(六) 用免疫扩散法检测抗肝细胞膜特异性抗体和抗肝特异性脂蛋白抗体的特性.....64	(十) 肝细胞膜抗原的性状.....67
(七) 对培养肝细胞(HUH-T细胞)的抗体依赖性细胞介导的细胞毒反应和补体介导的细胞毒反应.....65	(十一) 抗肝细胞膜抗体的检测意义和抗体研究的问题要点——特别是与乙型肝炎病毒的白蛋白受体的关系等.....68
(八) 狼疮样肝炎和其类似型的(统计全国总	(十二) 结论.....70
十、用细胞融合分析抗肝细胞膜抗体.....各务伸一等.....71	
(一) 方法.....71	(二) 结果.....73
1. 细胞融合法.....71	1. 融合细胞的分析和克隆化.....73
2. 抗体活性的筛选.....71	2. 抗体的特异性.....74
3. 融合细胞的克隆化和抗体活性的特异性的研究.....72	3. 抗体的亚类.....75
4. 抗体的亚类.....73	4. 与单克隆抗体反应的肝细胞膜特异性脂蛋白的分子量.....75
5. 与单克隆抗体反应的肝细胞膜特异性脂蛋白的分子量.....73	(三) 讨论.....75
十一、在乙型肝炎病毒感染状态下的血循环中含有乙型肝炎表面抗原的免疫复合物的临床意义.....原田英治等.....77	
(一) 测定方法及其研究.....77	(二) 急性乙型肝炎.....78
1. 利用免疫复合物的分子量和沉淀性在物理化学上进行证明的方法(间接证明法).....77	(三) 乙型肝炎病毒携带状态.....79
2. 在免疫生物学上证明免疫复合物的方法(直接证明法).....77	1. 无症状携带者(ASC).....79
十二、急性病毒性肝炎循环免疫复合体的临床意义.....中井一仁等.....84	2. 慢性肝疾患.....80
(一) 对象和方法.....84	(四) 结束语.....83
(二) 结果.....84	
十三、免疫性肝损害的血清及肝可溶性部分的控制机构.....高桥弘等.....90	
(一) 有关血清因子的最新知识.....90	(2) ADC抑制因子的性状.....92
1. 血清中的植物血凝集素(Phytohemagglutinin, PHA)幼稚化抑制因子.....90	(3) ADC增强因子的性状.....94
2. 作用于细胞损害性淋巴细胞的血清因子.....90	(二) 关于肝可溶性部分中的免疫抑制因子的最新发现.....95
(1) 作用于K细胞的血清因子.....91	(三) 结论.....96
十四、肝疾患血清分泌型免疫球蛋白A(Secretory IgA)增加的机制.....大崎哲夫等.....98	
(一) 血清SIgA的测定法.....98	2. 慢性肝炎和肝硬化.....102
(二) 健康对照, 哺乳期妇女, 溃疡性结肠炎患者的血清SIgA浓度.....100	3. 原发性胆汁性肝硬化(PBC).....103
(三) 血清和胆汁IgA浓度比较——关于胆汁选择性排泄研究.....100	4. 暴发性肝炎.....103
(四) 肝病血清分泌免疫球蛋白A浓度变化.....101	(五) 血清SIgA浓度和肝功能检查值.....103
1. 急性肝炎.....101	(六) 血清SIgA的增加机制.....104
	(七) 结论.....104

十五、原发性胆汁性肝硬化的新发现及其意义.....黑田博之等.....106	
(一) 电镜的观察.....106	3. 结果.....111
1. 病例.....106	(三) 讨论.....112
2. 方法.....106	1. 电子显微镜的观察.....112
3. 结果.....106	2. 病理生理学上的观察.....113
(二) PBC 血清的胆汁排泄抑制作用.....110	3. 机制假说.....113
1. 病例.....110	(四) 结论.....114
2. 方法.....111	
十六、原发性胆汁性肝硬化肝内胆管特异抗体的作用和免疫学调节.....大西三朗等.....115	
(一) 人胆汁抗原和抗体的调节及特异性的研究.....115	(2) 刀豆素A诱导抑制T细胞功能.....119
1. 胆汁抗原的部分精制及抗血清的制备.....115	(3) 末梢血中单核细胞的白细胞介素-1 (interleukin-1) 产生功能.....119
2. 胆汁抗原与脏器特异性.....115	(四) PBC 与其他自身免疫疾病重叠合并发生的免疫学研究.....120
(1) 家兔抗血清特异性的研究.....115	1. 对象和方法.....120
(2) 人胆汁抗原组织学的部位免疫组织学的研究.....116	(1) 人胰腺抗原的精制.....120
(二) 原发性胆汁性肝硬化的人胆汁抗原的免疫反应.....116	(2) 人胆汁抗原和胰抗原的细胞免疫的研究.....120
1. 对象和方法.....116	2. 结果.....121
2. 结果.....117	(1) 人胰腺抗原的脏器特异性研究.....121
(1) 人胆汁抗原的细胞免疫.....117	(2) 原发性胆汁性肝硬化, 慢性胰腺炎中的人胆汁抗原和胰抗原的细胞免疫.....121
(2) 人胆汁抗原的体液抗体.....117	(五) 结论.....121
(三) 原发性胆汁性肝硬化的免疫调节功能.....117	
1. 对象.....117	
2. 方法和结果.....118	
(1) 末梢血中的T细胞亚群.....118	
十七、在原发性胆汁性肝硬化中胆管损害的遗传免疫学机制.....加登康洋等.....122	
(一) 在 PBC 中 免疫应答遗传的调节.....122	容性抗原.....124
1. 对淋巴细胞各种抗原的免疫应答性.....122	(三) 对PBC患者末梢血淋巴细胞指示抗原的免疫反应.....125
2. 在 PBC 中的抑制细胞活性.....122	(四) PBC家族系组织相容性抗原.....125
3. PBC 与组织相容性抗原 (HLA)123	(五) 结论.....126
(二) PBC 胆管损害病因中的主要组织相.....126	
十八、淋巴因子诱发的实验性急性肝内胆汁郁滞——人急性肝内胆汁郁滞的发病机制——.....织田正也等.....128	
(一) 材料和方法.....129	4. 用大白鼠体内灌注肝的实验方法.....130
1. 一般肝功能检查.....129	5. 用取自成熟大白鼠的初代分离培养的肝细胞的实验方法.....130
2. 黄疸患者肝组织活检的形态学观察法.....129	6. 人的白细胞实验方法.....131
(1) 用光学显微镜观察法.....129	(1) 白细胞悬浮培养液的调节法.....131
(2) 应用电子显微镜观察法.....129	(2) 用琼脂糖 (agarose) 平板法白细胞游走抑制试验的方法 (间接法, 二阶段白细胞游走抑制因子
3. 健康者和黄疸患者的末梢血淋巴细胞培养法.....129	

测定)	131		135
(3) 用电镜观察白细胞的游走状态	131	4. 淋巴因子对初代分离培养肝细胞的影响	138
(二) 结果	132	(1) 位相差显微镜和电镜观察培养肝细胞的结果	138
1. 黄疸患者的肝功能结果	132	(2) 形态构成的分析	140
2. 人肝活检的组织学和电镜观察结果	132	5. 淋巴因子对白细胞游走的影响	140
3. 各类黄疸患者用植物血凝集素刺激淋巴细胞培养上清液(淋巴因子)对活体肝灌注的影响	135	(1) 白细胞游走抑制试验的研究	140
(1) 淋巴因子对胆汁流量的影响	135	(2) 光学显微镜和电镜研究	141
(2) 注入淋巴因子后的肝组织所见		(三) 讨论	141
十九、肝纤维化中的免疫学机制	新津洋司郎等	(四) 结论	146
(一) 纤维母细胞向炎症局部聚集	147	(六) FPF与白细胞介素-1	152
(二) 活化的单核细胞引起纤维母细胞增殖因子的产生	147	(七) 肝纤维化免疫学机制的假说	154
(三) 慢性肝病患者的单核细胞活化物质	149	(八) 在肝纤维化症中增加的胶原型	154
(四) 纤维母细胞增殖因子的性状	150	(九) 肝纤维化的血清学诊断	154
(五) FPF的促进胶原合成活性	151	(十) 结论	155
二十、本书用词英汉对照表			157

一、抗体依赖性细胞介导的细胞毒反 应引起肝细胞损害的机制

沟口靖纈*

在慢性活动性肝炎的发病机制中对于肝特异性抗原（肝细胞膜特异性脂蛋白，LSP）的免疫反应，已经有许多研究作了较多的说明，对这种肝细胞膜特异性脂蛋白（LSP）的免疫反应认为是多种方式的，然而更需要重视的是对肝细胞膜特异性脂蛋白（LSP）形成的特异性抗体介导的抗体依赖性细胞介导的细胞毒（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC）反应所引起的肝脏损害。

抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应是1965年Möller发现的现象，把小鼠的甲基胆蒽肉瘤细胞作为靶细胞，在其培养液中加入特异性抗体和同种小鼠淋巴结细胞，报导了不存在补体而发生靶细胞溶解。这种抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应引起的肝细胞损害，在慢性活动性肝炎中可能具有重要意义，这种可能性已经由Cochrane等, paronetto等, Vogten等及笔者等的试验加以提出。但是，抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应而导致的肝细胞损害机制还不十分清楚。

本文对抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应所引起的肝细胞损害机制进行阐述的同时，还就这种抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应受各种因素的影响，以作者自己的研究结果为中心加以讨论。

（一）效应细胞(effector cell)

1. K细胞群(K cell population)

钱谷等以绵羊红细胞做为靶细胞的改良血小板法，报告慢性肝疾患病人末梢血的K细胞群低下。图1是作者根据同一方法研究的慢性活动性肝炎患者K细胞群的资料分析，慢性活动性肝炎患者比健康人的K细胞群低下。但如在患者K细胞群中加入活化的巨噬细胞培养上清液，K细胞群就上升，但慢性活动性肝炎患者比健康人无明显增加。这样，可以认为在慢性肝炎末梢血中抗体依赖细胞介导的细胞毒性（ADCC）的活性是下降的，然而，作为其原因，

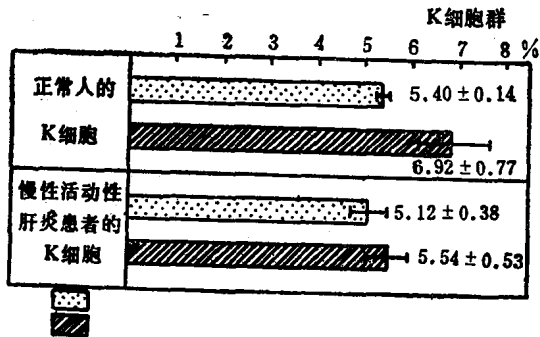


图1 慢性活动性肝炎患者末梢血K细胞群中的活性在巨噬细胞培养上清液的影响。

是由于向肝实质内K细胞动员的结果，由于淋巴细胞血清因子而引起的K细胞减少，或是因为免疫复合物Fc受体在血中封闭等多种多样的报告，也可认为是K细胞的巨噬细胞机能低下。

2. K细胞产生分泌的化学介体

抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应如图2所示，对于标志细胞抗原而形成的特异抗体是用其Fab与抗原结合再用Fc段与效应细胞结合，引起标志细胞的损害，因

*大阪市立大学医学部第三内科教研室

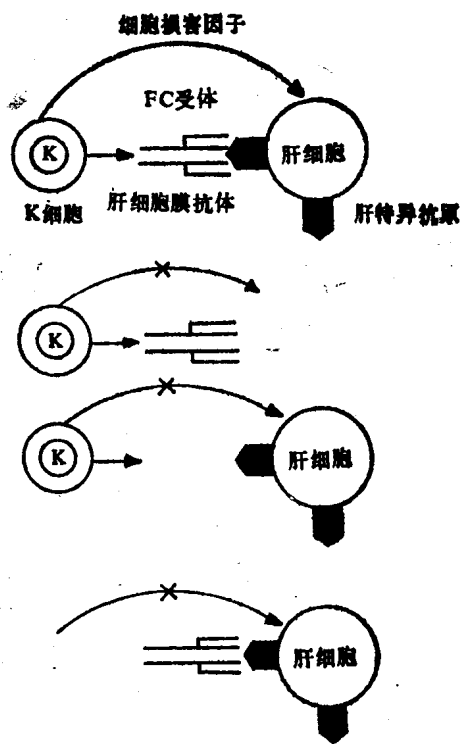


图2 ADCC反应引起的肝细胞损害模式图

在K细胞, 肝细胞和抗肝细胞膜抗体存在时, 从K细胞中产生分泌细胞损害因子。除此以外不产生分泌细胞损害因子

毒素有非特异性作用的可能性有必要加以阐明。

Friou和Frye观察了鸡胚红细胞作为靶细胞, 把小鼠脾细胞作为效应细胞的抗鸡胚红细胞抗体而引起的溶血现象, 观察由于磷脂酶A的阻断剂及磷脂胆碱而被抑制, 指示效应细胞来源的磷脂酶可能和靶细胞融解有关。

笔者等通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应的肝细胞损害是以抗体介导的效应细胞与靶细胞的结合成为反应的触发物, 而显示出从效应细胞产生的细胞毒素因子, 有诱导此实验的可能性。即分离抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应的细胞培养上清液, 加入未经处理的分离的肝细胞中, 于是, 就导致了人为的肝细胞损害。这种细胞毒素因子如果是应用Sephadex G-75柱凝胶过滤进行分离精制, 其分子量是12,500~68,000的高分子蛋白质。此因子以DEAE纤维素柱色谱法及等电点柱电泳法, 提示有2种以上的活性因子。但是这些活性因子与已知的β淋巴毒素及磷脂酶A有何关系却尚不清楚。

3. 影响ADCC反应的各种因子

(1) 血清因子的影响 在慢性活动性肝炎的肝细胞损害中, 抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应可能起着重要作用, 在患者血清中抗肝特异抗原抗体(LSP)检出率是高的。将含有抗LSP抗体的血清注入动物时, 可导致肝炎样的组织学改变。

但是已知抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应是体外实验得到的, 而在机体内能否引起同样反应尚无确凿证据, 我们认为在体内各种环境恒定的情况下, 抗体依赖性细

此, 通过抗体介导的效应细胞与靶细胞的结合成为引起标志细胞障碍反应的触发物, 这是毫无异议的。但是, 关于这种细胞间的结合其导致靶细胞损害的机制则未必是清楚的。

可是, 仅仅抗体和肝细胞不能导致细胞损害。所以, 认为通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应导致的肝细胞损害, 不是补体起介导作用。而且, 即是仅仅效应细胞和靶细胞, 亦不引起靶细胞损害, 故认为也不是细胞毒T细胞的反应。

关于抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)引起的细胞损害, 矢野等证明在抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应的细胞上清液中存在B淋巴细胞毒素, 并提出产生于K细胞的B淋巴细胞毒素, 在抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应中对靶细胞损害起重要作用。矢野等用人自身细胞作靶细胞研究抗组织相容抗原(HLA)抗体引起的抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应, 但其结果尚不清楚, 直接对肝特异性抗原的抗体引起抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应能否适用。另外关于介导抗体的效应细胞与靶细胞结合的结果, 淋巴细胞毒素是如何输送的也不清楚。因此, 淋巴细胞

胞介导的细胞毒 (ADCC) 反应的细胞有各种形式的改变。一般认为各种肝病, 特别是慢性活动性肝炎, 有不同程度的单核细胞浸润, 这是以病毒感染作为开端而导致的机体反应的总和, 病毒感染的程度, 由此引起的宿主呈免疫反应, 除了在免疫基础上的效应结构等, 那些抑制结构也是具有重要意义的。

事实上, 在试管内由于活化巨噬细胞引起体外分离肝细胞的损害, 其血清成分增强或减弱。

图3是把健康人血清应用Sephadex G-200柱色谱法, 分成4部分蛋白溶解曲线。笔者等把在抗体依赖性细胞介导的细胞毒 (ADCC) 反应的效应细胞, 用各部分血清进行前处理, 研究对抗体依赖性细胞介导的细胞毒 (ADCC) 反应而引起肝细胞损害的影响。结果把作为效应细胞应用的末梢血单核细胞, 用从健康人血清中分离出来的第一部分进行前处理, 其反应如图4所示, 肝细胞损害明显减轻, 相反, 用第三部分进行前处理则肝细胞损害就加重。说明血清因子对抗体依赖性细胞介导的细胞毒 (ADCC) 反应有改变的可能性。

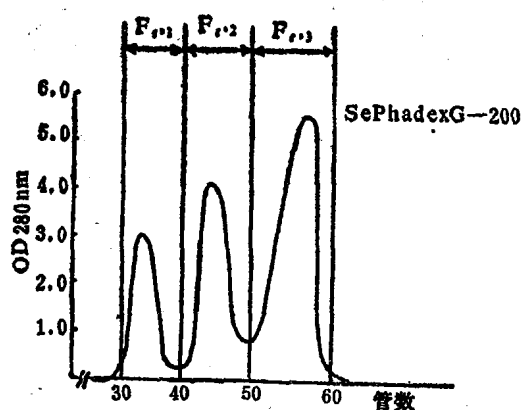


图3 由健康人血清Sephadex G-200色谱柱法而获得280nm的蛋白溶出曲线。

实验使用时, 第1分类调制到蛋白2mg/ml, 第2分类为蛋白4mg/ml, 第3分类为蛋白8mg/ml, 但是, 第4分类蛋白浓度低, 不能使用

然而, 抗体依赖性细胞介导的细胞毒 (ADCC) 反应, 把效应细胞用脂多糖等进行活化时则显著增强。健康人血清第3部分是增强在抗体依赖性细胞介导的细胞毒 (ADCC) 反应的细胞培养上清液中产生的巨噬细胞活化因子 (MAF)。也认为, 通过血清因子分类中的抗体依

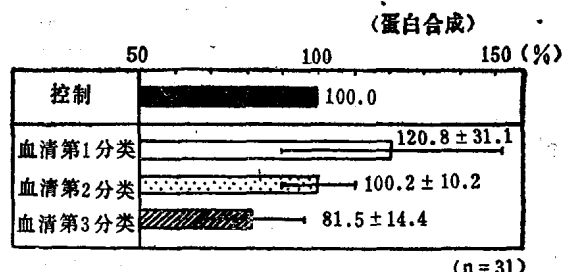


图4 ADCC反应中血清分类的影响。

用分离肝细胞的蛋白合成功能判定细胞损害

赖性细胞介导的细胞毒 (ADCC) 反应增强是由于巨噬细胞活化因子 (MAF) 的产生增加所致。

Chapman等报告了免疫反应与血清因子的关系, 认为用脂多糖活化的巨噬细胞的纤维蛋白溶酶原活化剂的产生和抗肿瘤作用, 是通过血清分类进行调节的。钱谷等把K细胞群低下的患者血清加入正常人末梢血淋巴细胞时确认了K细胞群低下。根据对葡聚糖凝胶G-200柱色谱法的研究, 报导了使K细胞群低下的物质是第1及第3部分。

相泽等用胰蛋白酶处理慢性活动性肝炎患者的淋巴细胞, 下降的K细胞群就恢复正常, 认为这是免疫复合物的Fc受体的阻断致K细胞群低下。

总之, 抗体依赖性细胞介导的细胞毒 (ADCC) 反应确实受到血清因子的影响。在慢性活动性肝炎患者的血清中, 这些血清因子变化是今后研究的课题。认为抗体依赖性细胞介导的细胞毒 (ADCC) 反应可能受体外因子调节, 在体外实验结果与机体内的病变进行比较的基础上提起探讨的重要问题。

(2) 性激素的影响 已知自身免疫性疾病的发病率女性比男性显著高, 对于这种免疫学上性差别的趋势, 认为免疫系统是由性激素调节的。

在自身免疫性肝炎中，女性也比男性发病率高。著者论述了乙型病毒性肝炎病毒的排除能力及各种免疫反应有关的性差别。

各种实验证明：性激素，特别是女性激素，不但对淋巴细胞而且也对巨噬细胞有影响。

因此，我们研究了性激素在抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应的肝细胞损害中的影响。其结果抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应引起的肝细胞损害如图5所示，将效应细胞用适量浓度的雌性激素（ 5×10^{-7} mg/ml）进行前处理，与对照比较发现肝细胞损害明显。另一方面证实了睾丸素对雌激素增强肝细胞损害的效果有明显抑制。并且，尽管高浓度的雌激素（ 1×10^{-4} mg/ml）不增强抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应但在高浓度雌激素的同时，再加入低浓度的睾丸素（ 1×10^{-8} mg/ml），抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应的肝细胞损害即可增强。

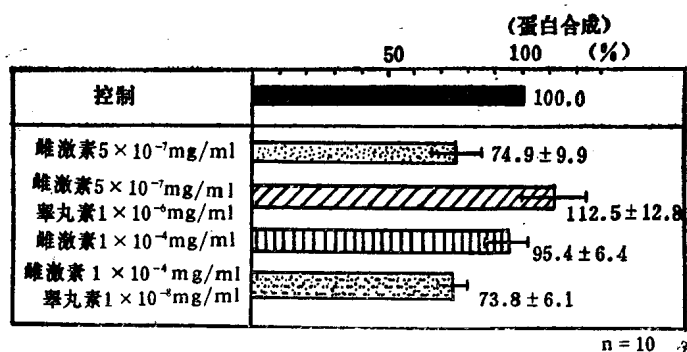


图5 性激素对ADCC反应的影用影响分离肝细胞的蛋白合成功能判定细胞损害

细胞毒（ADCC）反应增强效果至少有一部分是由于雌激素对巨噬细胞活化所致。

Nicol等阐述了女性激素增强抗体产生的机制，是由于女性激素促进了产生抗体的辅助细胞的功能。笔者证明了雌激素有活化巨噬细胞的能力，而雌激素处理的巨噬细胞培养上清液中含有白细胞介素-1。

Kenny等和Paavonen等认为通过女性激素增强抗体产生对T细胞产生影响，另外，Castro等对摘除睾丸的小鼠抗体产生移植排斥等免疫反应亢进，给阉割的小鼠以雄性激素，于是免疫反应亢进消失。因此认为，女性激素和男性激素对免疫反应有相反作用。认为详细阐明免疫系统细胞的性激素受体已开始明确了。

4. 巨噬细胞的参与

抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应，是由含有Fc受体的效应细胞介导的免疫球蛋白G（IgG）型抗体，与靶细胞结合而引起的。此效应细胞为何种细胞未能统一认识，根据靶细胞种类，除淋巴细胞的K细胞外，单核巨噬细胞系的细胞也作为效应细胞。无论是

图6示，适当浓度的雌激素（ 5×10^{-7} mg/ml）或与高浓度雌激素的同时用低浓度的睾丸素将巨噬细胞进行前处理，用其培养上清液处理效应细胞，已知同样的抗体依赖性细胞介导的细胞毒（ADCC）反应的肝细胞损害增强。

从上述结果可以推测女性激素对抗体依赖性细胞介导的

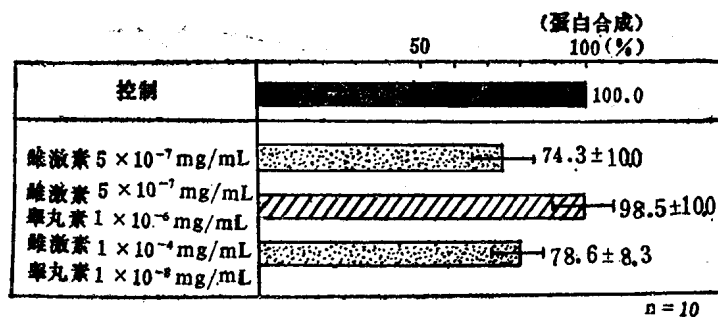


图6 性激素处理巨噬细胞培养上清液对ADCC反应的影响用分离肝细胞的蛋白合成功能判定细胞损害

末梢血中的单核细胞，还是在其原来组织的巨噬细胞，都可能有Fc受体，所以不能除外对于抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应成为效应细胞的可能。另外，把K细胞作为效应细胞的抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应，也可能依赖于单核巨噬细胞系统细胞。事实上，Vogten等以LSP包被的斑鸠红细胞作为靶细胞，研究由抗肝特异性脂蛋白抗体引起的抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应。从作为效应细胞的单细胞中除去吞噬铁粉的细胞，发现抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应系统引起的溶血显著下降。

由于抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应引起的肝细胞损害效应结构已很明确，分离正常人末梢血单核细胞，并用尼龙纤维柱状物除去粘附性细胞，笔者们还研究了抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应中效应细胞活性的影响。

把含有单核巨噬细胞系的粘附细胞的单核细胞作为效应细胞进行抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应的结果如图7所示，抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应有意义的发现是向肝细胞进入的 ^3H -L-亮氨酸显著下降，用台盼蓝染色排除试验检查肝细胞活力也低下。因此认为是肝细胞损害。这提示在抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应细胞培养上清液中存在肝细胞损害因子。

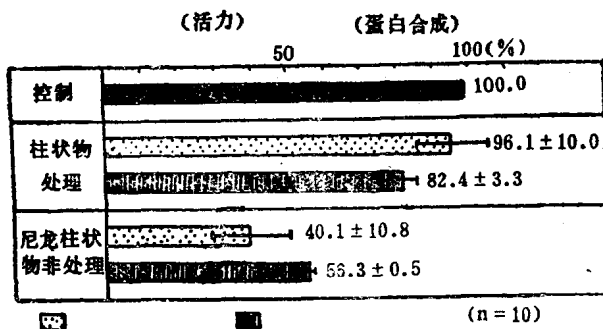


图7 将人体末梢血单核细胞用尼龙纤维柱状物处理，对ADCC的影响，用分离肝细胞的蛋白合成功能和台盼蓝染料分离试验产生的活性，判定细胞损害

■ ^3H -亮氨酸摄取 ■ 锥虫蓝染色排除试验

另外，把从末梢血中分离出的单核细胞用尼龙纤维柱除去粘附细胞，将其加入以抗体包被的分离肝细胞中进行培养，研究对其细胞培养上清液的肝细胞损害性，如图7所示，发现和对照几乎无任何差异，因此，可以判定肝细胞损害因子的产生为阴性，这一点用台盼蓝染色排除试验也得到证实。

从这些结果判断效应细胞作用的粘附细胞的存在是不可缺少的。

而且，把含有单核巨噬细胞系细胞的抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应初期的细胞培养上清液加入除去粘附性细胞的末梢血的单核细胞，培养后一定时间，先加入用抗肝细胞抗体包被的分离肝细胞可导致肝细胞损害，但在除去单核巨噬细胞系细胞的抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应初期的细胞培养上清液中，却不能引起肝细胞损害(图8)。同样，用脂多糖活化的巨噬细胞培养上清液时加入活化的巨噬细胞培养上清液代替白细胞介素-1，也得到同样结果，可能在活化的巨噬细胞培养上清液中含有白细胞介素-1。

用分离肝细胞的蛋白合成功能判定细胞损害，而且，含有粘附性细胞的抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应的初期培养液，以葡聚糖凝胶G-75柱色谱法分类，如图11a所示，在第四部分中认为把非粘附细胞作为效应细胞的抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应活性增强。

由此结果表明，活化的单核巨噬细胞系细胞在抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应中产生和分泌重要作用的因子。这种活性因子的化学性状及作用机制是今后的研究课题。

而且，含有粘附性细胞的抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应的初期培养液，以葡聚糖凝胶G-75柱色谱法分类，如图11a所示，在第四部分中认为把非粘附细胞作为效应细胞的抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应活性增强。

由此结果表明，活化的单核巨噬细胞系细胞在抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)反应中产生和分泌重要作用的因子。这种活性因子的化学性状及作用机制是今后的研究课题。