

原 著

血中 HBs 抗原陽性例肝実質細胞の電顕的研究

古 川 賢 一

信州大学医学部第2内科学教室
(主任:小田正幸教授)

ELECTRON MICROSCOPIC STUDIES OF HEPATOCYTES OF PATIENTS WITH HEPATITIS B SURFACE ANTIGENEMIA

Ken-ichi FURUKAWA

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
Shinshu University
(Director: Prof. Masayuki Oda)

Key words: 電子顕微鏡 (electron microscope)
HBs 抗原 (hepatitis B surface antigen)
e 抗原 (e antigen)
無症候性 HBs 抗原持続陽性者 (asymptomatic HBs-Ag carrier)

I. 緒 言

血中 hepatitis B surface antigen (以下 HBs 抗原)陽性例肝組織の電子顕微鏡的観察によって、1970年 Nowoslawski ら¹⁾は、肝細胞核内に直径 20~25nm の円形粒子を発見し、1972年 Steinら²⁾は、肝細胞質内滑面小胞体槽内の直径 35nm、長さ 100~1000nm の線維様構造物およびその断面とおもわれる直径 35nm の円形構造物を見出した。その後、多くの研究者により、核内円形粒子はその形態が血中 Dane 粒子の core と一致することから肝組織内の HBe 抗原関連物質であり³⁾⁴⁾、滑面小胞体槽内線維様構造物および円形構造物は、蛍光抗体法⁵⁾、免疫電顕法⁶⁾等との対比により肝組織内の HBs 抗原関連物質であろうと考えられている。これらの構造物が血中 HBs 抗原陽性例にのみ観察されていることから HBs 抗原関連物質であることは認められているが、それらが存在する核や滑面小胞体の形態についての報告は少ない。

一方、1972年 Magnusius ら⁷⁾により HBs 抗原陽性血清中にもみ検出される新しい抗原抗体系—e 抗原・e 抗体—が発見され、以来その疫学および臨床的意

義について多くの報告がなされている。なかでも e 抗原陽性母親から児への垂直感染率が高く⁸⁾、チンパンジーへの感染実験においても e 抗原陽性血清が高感染性をもつ⁹⁾等より、B型肝炎の感染性に e 抗原が関与する可能性が示されている。しかし e 抗原・抗体系と肝細胞微細構造との関連についての報告はいまだみられない。

そこで今回著者は、血中 HBs 抗原陽性例の肝実質細胞を電顕的に観察し、肝細胞微細構造、特に滑面小胞体の形態ならびに核内円形粒子と各種肝疾患との関係について検討を加え、特に無症候性 HBs 抗原持続陽性者においては e 抗原・抗体系と肝細胞微細構造との関係を検討した。また、これら電顕的観察所見と蛍光抗体法によって検索した肝組織内の HBs 抗原、HBe 抗原との関連についても併せ検討したのでその成績を報告する。

II. 対象および方法

A. 対 象

信州大学第2内科および関連病院において入院または外来を訪れた血中 HBs 抗原陽性者で、肝生検に

より組織学的に診断しえた57名(男45名, 女12名)を対象にした。そのうちわけは, 慢性肝炎非活動型(chronic inactive hepatitis 以下 CIH) 10例(男8例, 女2例, 平均年齢33.5才), 慢性肝炎活動型(chronic active hepatitis 以下 CAH) 11例(男10例, 女1例, 平均年齢37.6才), 肝硬変症(liver cirrhosis 以下 LC) 11例(男8例, 女3例, 平均年齢48.1才), 無症候性 HBs 抗原持続陽性者(asymptomatic HBs-Ag carrier 以下 carrier) 25例(男19例, 女6例, 平均年齢29.1才)である(表1)。ここで carrier とは少なくとも3ヶ月以上にわたり血中 HBs 抗原が持続的に陽性で, 肝炎と関係ある既往症や自覚症状, 理学的所見ならびに肝機能検査の異常などを認めず, かつ肝組織像においても特に異常所見を認めないか, 実質類洞内・門脈域にごく軽度の炎症性細胞浸潤を認めるにすぎない, いわゆる非特異性肝炎(nonspecific reactive hepatitis) 程度の所見を示す例とした¹⁰⁾。

表 1 対 象

	男	女	計	平均年齢 才
慢性肝炎非活動型 (CIH)	8	2	10	33.5
慢性肝炎活動型 (CAH)	10	1	11	37.6
肝硬変症 (LC)	8	3	11	48.1
Asymptomatic HBs-Ag carrier (carrier)	19	6	25	29.1
計	45	12	57	

表 2 asymptomatic HBs-Ag carrier 例の肝機能検査値

症例	氏名	GOT	GPT	Al-p	T. Bil	ZTT	TTT	症例	氏名	GOT	GPT	Al-p	T. Bil	ZTT	TTT
1	E. T.	18	18	6.2	0.6	10.6	4.1	16	T. Y.	8	17	13.2	0.6	4.8	2.4
2	Y. A.	17	8	5.4	0.6	5.8	1.5	17	O. J.	18	16	6.4	0.6	8.2	3.6
3	H. H.	22	23	8.3	0.9	6.9	1.5	18	K. Y.	14	7	4.5	0.6	12.6	7.3
4	K. K.	20	16	6.6	0.8	7.0	4.1	19	K. T.	26	25	10.1	0.5	7.8	7.2
5	N. M.	21	27	11.2	1.0	8.8	6.0	20	I. Y.	14	8	4.4	0.5	8.8	5.8
6	T. I.	17	10	9.8	1.0	4.9	2.1	21	T. T.	22	24	6.2	0.7	5.8	2.5
7	N. H.	21	26	11.0	0.7	5.6	2.1	22	O. Y.	19	18	9.6	0.7	11.0	1.1
8	K. H.	16	10	5.6	0.6	8.6	3.6	23	N. Y.	20	26	6.3	0.7	8.7	4.4
9	H. T.	22	14	8.2	0.8	8.8	2.6	24	N. M.	20	10	3.8	0.8	6.1	2.0
10	T. R.	18	17	7.4	0.8	6.4	1.6	25	F. S.	18	15	6.1	0.7	5.0	4.0
11	N. T.	13	14	4.5	0.4	5.7	3.5								
12	F. T.	17	26	6.9	0.4	6.7	3.7								
13	K. Y.	27	26	10.7	0.5	9.8	4.2								
14	M. H.	17	26	10.9	0.9	6.7	3.5								
15	N. K.	21	7	7.8	0.7	12.9	7.5								

症例 1~10: e 抗原陽性
11~25: e 抗体陽性

(表2)

B. 材料および方法

材料は, 各症例より腹腔鏡直視下または, Silverman 針をもちいた経皮的盲肝生検によりえられた肝組織をもちいた。

方法は, えられた肝組織を光学顕微鏡観察用, 電子顕微鏡観察用, 蛍光抗体法による観察用の3片に分割した。

1. 光学顕微鏡による観察

えられた組織を, 10%ホルマリンで固定しパラフィン包埋, 厚さ5 μ 前後に薄切後, H. E. 染色, MAL-LORY-AZAN 染色, PAS 染色をほどこし光学顕微鏡で観察した。

2. 蛍光抗体法による肝内 HBs 抗原

および Hbc 抗原の検索

肝内 HBs 抗原は古田ら¹¹⁾が報告したごとく, えられた肝組織をドライアイス・アセトン槽内の N-ヘキ

血中 HBs 抗原陽性例肝実質細胞の電顕的研究

サン入り試験管内で3分間凍結し、 -30°C のクライオスタット内で厚さ 4μ に薄切、無蛍光スライドグラス上に貼布した。十分に乾燥後、アセトンで3分間固定、fluorescein isothiocyanate (FITC) 結合抗 HBs 抗体を数滴のせ、湿潤室内 37°C で45分間反応させた。反応終了後 pH7.2 のリン酸緩衝液で15分間ごと3回洗浄し、乾燥後 pH7.2 緩衝グリセリン液とカバーガラスで包埋し、蛍光顕微鏡 (オリンパス蛍光顕微鏡 FLM 型) で励起主波長 365nm で観察した。この際使用した抗 HBs 抗体は、ヒト抗 HBs 抗体陽性血清から50%飽和硫酸法でグロブリンを抽出し、これに FITC を結合した。未結合色素は Sephadex G-25 および DEAE cellulose column で除去し、FITC 結合抗 HBs 抗体はアセトン処理ラット肝粉末で吸着処理した。

肝内 HBe 抗原は清沢ら¹²⁾の報告のごとく、蛍光抗体間接法により行った。すなわち、高力価の HBe 抗体の証明された carrier 血清を一次血清として反応させた。次にラット肝粉末で吸着処理した FITC 結合ヒト Ig-G (Myeles Yeda 社製) を反応させた後鏡検した。肝組織の採取、薄切、反応時間、方法、洗浄方法等は HBs 抗原検索の場合と同様である。

これら蛍光抗体法による HBs 抗原、HBe 抗原に対する特異蛍光は、既報のごとく阻害試験にて確認した。

3. 電子顕微鏡による観察

えられた組織をただちに 1mm^3 程度に細切し、 4°C 、pH7.2 リン酸緩衝 2.5% Glutaraldehyde にて2時間前固定。pH7.2 リン酸緩衝液にて数回洗浄後、

4°C 、pH7.2 リン酸緩衝 1% オスミウム酸で1時間固定、pH7.2 リン酸緩衝液にて数回洗浄後、エタノール系列で脱水、Propylene oxide で置換し、Epon-812¹³⁾、あるいは Araldite 樹脂¹⁴⁾に包埋した。LKB 社製超ミクロトームを用いて厚さ 60nm から 90nm に薄切後、酢酸ウラン¹⁵⁾、クエン酸鉛¹⁶⁾の二重染色をし、日立 HS-9 型電子顕微鏡により観察、撮影した。

4. 血中 HBs 抗原、e 抗原、e 抗体の測定

肝生検時の血清で、HBs 抗原を reversed passive haemagglutination (R-PHA) 法にて測定した。carrier 例においては同じ血清をもちいて micro Ouchterlony (MO) 法による double immuno diffusion 法により e 抗原、e 抗体を検索した。この場合 0.1M NaCl と Dextran T-240 を含んだ Tris-HCl buffer (0.01M, pH7.6) 中に 0.9% agarose を加えた寒天平板をもちい、直径 3mm の穴の縁から縁までの距離を 3mm とした。被検血清および検査用血清 (referent reagent serum) は、lyphogel にて予め約 3 倍に濃縮したものをもちいた。

III. 成績

血中 HBs 抗原陽性各種肝疾患における血中 HBs 抗原値ならびに肝内 HBs 抗原、HBe 抗原と、肝実質細胞の形態像よりの分類を表3から表7に示した。

A. 電顕所見

観察した 57 例全例に肝実質細胞の滑面小胞体 (smooth surfaced endoplasmic reticulum 以下 sER) の形態変化が認められ、一部症例では核内に直径

表 3 asymptomatic HBs-Ag carrier (e 抗原陽性例)

症例	氏名	性	年齢	肝実質細胞型				核内 粒子	肝組織内		血中 HBs titer
				I型	II型	III型	IV型		HBs	HBe	
1	E. T.	♂	55	-	卅	卅	+	-	—	—	>256 ^x
2	Y. A.	♀	40	+	+	卅	-	+	M, C	+	256
3	H. H.	♂	32	+	+	卅	-	+	M, C	+	>256
4	K. K.	♂	30	-	卅	+	-	-	M	-	>256
5	N. M.	♂	24	+	卅	-	-	+	M, C	+	256
6	T. I.	♂	19	+	+	卅	-	-	M, C	-	128
7	N. H.	♂	19	-	卅	+	-	-	M	+	>256
8	K. H.	♂	18	+	卅	-	-	-	M	+	256
9	H. T.	♂	40	-	卅	+	-	+	M, C	+	64
10	T. R.	♂	30	-	卅	+	-	+	—	—	>256

表 4 asymptomatic HBs-Ag carrier (e抗体陽性例)

症例	氏名	性	年齢	肝実質細胞型				核内 粒子	肝組織内		血中 HBs titer
				I型	II型	III型	IV型		HBs	HBc	
11	N. T.	♀	43	+	卅	+	+	-	/	/	>256 ^x
12	F. T.	♂	40	+	+	卅	-	-	C	+	128
13	K. Y.	♂	24	-	卅	+	-	-	M	-	128
14	M. H.	♂	26	卅	卅	+	-	-	M, C	-	>256
15	N. K.	♂	30	-	+	卅	-	+	M	+	64
16	T. Y.	♂	19	卅	卅	-	-	-	M, C	+	64
17	O. J.	♀	27	卅	卅	-	-	-	/	/	64
18	K. Y.	♀	27	+	卅	+	-	-	M	/	>256
19	K. T.	♂	28	-	卅	卅	-	-	M	/	>256
20	I. Y.	♀	26	-	卅	-	-	-	M	-	128
21	T. T.	♂	30	+	卅	+	-	-	M	-	>256
22	O. Y.	♂	32	-	卅	+	-	-	M, C	-	>256
23	N. Y.	♂	21	+	+	卅	-	-	M, C	-	>256
24	N. M.	♂	22	-	卅	-	-	-	M	-	256
25	F. S.	♀	25	+	卅	卅	-	-	M	-	256

表 5 慢性肝炎非活動型 (CIH)

症例	氏名	性	年齢	肝実質細胞型				核内 粒子	肝組織内		血中 HBs titer
				I型	II型	III型	IV型		HBs	HBc	
26	I. N.	♂	38	-	卅	卅	+	-	C	-	64 ^x
27	S. K.	♂	30	-	卅	+	-	+	/	/	>256
28	I. E.	♂	33	-	卅	+	-	+	M, C	+	>256
29	M. T.	♂	37	-	卅	卅	-	-	C	-	>256
30	Y. T.	♂	31	-	卅	+	-	+	M, C	+	>256
31	T. Y.	♂	22	-	卅	+	-	-	/	+	>256
32	H. Y.	♀	23	-	卅	-	-	-	M, C	+	>256
33	T. H.	♀	38	-	-	卅	-	-	/	/	64
34	F. M.	♂	42	-	+	卅	+	-	M, C	+	>256
35	K. S.	♂	41	-	卅	-	-	-	M	-	64

20~27nm の円形粒子がみられた。

1. 滑面小胞体の形態変化

血中 HBs 抗原陽性例57例の肝実質細胞はその sER の形態から4型に分類できた。

a. I型肝細胞 (図1, 2)

細胞膜に異常なく、糸粒体に量的質的異常はみられない。グリコーゲン顆粒は減少し、粗面小胞体 (rough surfaced endoplasmic reticulum 以下 rER) も減少しているが形態学的に異常はない。sER は増加し、小胞体槽が拡張しその内に直径25~35nm、

長さ100~1000nm の線維様構造物およびその断面とおもわれる直径25~35nm の円形構造物をいれている。これらの sER は多くは封入体様に核近くに集塊をなし、他の細胞小器官を圧排しているが、細胞質内にびまん性に分散するもの、細胞膜近くに分布するものもみられた (図3)。封入体様に集塊をなすものでは核も圧排され偏在しているが、核膜や核内に異常はみられない。

b. II型肝細胞 (図4, 5)

I型肝細胞と同様に核、細胞膜、糸粒体に異常な

表 6 慢性肝炎活動型 (CAH)

症例	氏名	性	年齢	肝実質細胞型				核内 粒子	肝組織内		血中 HBs titer ^x
				I型	II型	III型	IV型		HBs	HBc	
36	N. I.	♀	52	-	+	卅	+	-	C	+	32
37	K. N.	♂	34	-	卅	卅	-	-	M	-	128
38	K. M.	♂	58	-	卅	+	-	+	C	+	>256
39	H. H.	♂	26	-	卅	+	-	-	C	+	128
40	K. T.	♂	37	-	卅	卅	-	+	M, C	+	>256
41	T. M.	♂	28	-	-	卅	-	-	C	+	32
42	K. T.	♂	23	-	卅	+	+	-	C	+	>256
43	K. Y.	♂	29	-	卅	+	-	-	C	+	>256
44	K. T.	♂	38	+	+	卅	-	-	M	+	>256
45	K. M.	♂	40	-	+	卅	-	-	C	-	128
46	H. E.	♂	49	-	卅	卅	-	-	C	+	>256

表 7 肝硬変症 (LC)

症例	氏名	性	年齢	肝実質細胞型				核内 粒子	肝組織内		血中 HBs titer ^x
				I型	II型	III型	IV型		HBs	HBc	
47	N. T.	♂	36	-	+	卅	+	+	M, C	+	128
48	Y. K.	♂	23	-	+	卅	-	-	C	-	>256
49	T. S.	♂	39	-	卅	+	卅	-	C	-	>256
50	N. H.	♂	28	-	+	卅	+	-	C	-	8
51	T. R.	♂	67	-	卅	+	+	-	/	/	8
52	K. S.	♀	51	-	+	+	卅	-	C	-	8
53	K. J.	♂	45	-	卅	-	-	-	/	/	128
54	N. Y.	♀	48	-	卅	+	卅	-	/	/	64
55	U. M.	♀	36	-	+	卅	+	-	/	/	32
56	K. N.	♂	52	-	+	-	卅	-	C	+	128
57	M. M.	♂	56	-	-	卅	-	-	C	-	64

く、グリコーゲン顆粒、rER は減少している。sER は増加、小胞体槽は拡張し多くは封入体様に集塊をなし、そのため核は偏在している。一部では、細胞質内にびまん性に分布しているが、細胞膜近くへの局在はみられない。この様に I 型肝細胞と類似するが、小胞体槽内には線維様構造物、円形構造物はみられず、中等度の電子密度をもつ無定形構造物を入れている。この無定形構造物は小胞体槽内に不均一に分布している。

c. III 型肝細胞 (図 6, 7)

核、細胞膜、糸粒体に異常なく、グリコーゲン顆粒、rER は減少している。sER は増加し小胞体槽は類円形に拡張しており、内にごくわずかの無定形構造

物を入れている。封入体様に集塊をなすものは少なく、多くは細胞質内に散在性にみられ、核の偏在も少ない。

d. IV 型肝細胞 (図 8)

形態学的にはほぼ正常と思われる肝細胞で、グリコーゲン顆粒の減少、rER の減少、sER の増加、小胞体槽の拡張等はみられない。

以上の分類を各症例で任意の 100 個の肝実質細胞について行い、その個数が 0 を -、1~19 個を +、20~79 個を 卅、80~100 個を 卅 として比較した (表 3~7)。

各型の出現率は表 8 に示す様に carrier 25 例では、I 型肝細胞 56.0%、II 型肝細胞 100%、III 型肝細胞

76.0%, IV型肝細胞8.0%。CIH 10例では, I型肝細胞0%, II型肝細胞90.0%, III型肝細胞80.0%, IV型肝細胞20.0%。CAH 11例では, I型肝細胞9.1%, II型肝細胞90.9%, III型肝細胞100%, IV型肝細胞18.2%。LC 11例では, I型肝細胞0, II型肝細胞90.9%, III型肝細胞81.8%, IV型肝細胞72.7%に各々みられた。慢性肝疾患全体では, 32例中I型肝細胞3.1%, II型肝細胞90.6%, III型肝細胞87.5%, IV型肝細胞37.5%であった。以上から, carrier例ではI型肝細胞が多く, IV型肝細胞は少なく, 慢性肝疾患例では, I型肝細胞が少なく, IV型肝細胞がcarrier例に比し明らかに多くみられた。II型肝細胞はcarrier例に多く, III型肝細胞は慢性肝疾患に多い傾向がみられたが有意差はなかった。また表9に示す様にcarrier例においてe抗原, e抗体の有無によってこれら各型の肝細胞の出現率を比較すると, e抗原陽性例10例ではI型肝細胞50.0%, II型肝細胞100%, III型肝細胞80.0%, IV型肝細胞10.0%。e抗体陽性例15例では, I型肝細胞60.0%, II型肝細胞100%, III型肝細胞

73.3%, IV型肝細胞6.7%であり, 両者間に有意差はみられなかったが, e抗原陽性例ではI型肝細胞が少なく, II, III型肝細胞が多い傾向がみられ, 慢性肝疾患に類似の出現傾向がみられた。

2. 核内円形粒子

今回検索した57例中11例(19.3%)の肝細胞核内に直径20~27nmで中心部が周辺部に比し電子密度が低く中空状,あるいはほぼ均一な電子密度をもつ円形粒子が観察された(図9, 10)。多くは核内に散在性のみられ, 一部症例(症例2)では1ヶ所に集簇するものもみられた(図11)。核内粒子の観察された肝細胞は, 上述の細胞型分類で, II, III型のものがほとんどで, I型肝細胞核内には円形粒子は観察されなかった。この核内円形粒子は, carrier例25例中6例(24.0%), CIH 10例中3例(30.0%), CAH 11例中2例(18.2%), LC 11例中1例(9.1%)にみられ, 慢性肝疾患例全体では22例中6例(27.3%)であった(表8)。carrier例と慢性肝疾患例の間に出現率の有意差はなかった。carrier例において, e抗原陽性例10

表 8

	肝実質細胞型				核内粒子
	I型	II型	III型	IV型	
Asymptomatic HBs-Ag carrier 25例	56.0% 14/25	100.0% 25/25	76.0% 19/25	8.0% 2/25	24.0% 6/25
CIH 10例	0 0/10	90.0% 9/10	80.0% 8/10	20.0% 2/10	30.0% 3/10
CAH 11例	9.1% 1/11	90.9% 10/11	100.0% 11/11	18.2% 2/11	18.2% 2/11
LC 11例	0 0/11	90.9% 10/11	81.8% 9/11	72.7% 8/11	9.1% 1/11

表 9 Asymptomatic HBs-Ag carrier

	肝実質細胞型				核内粒子
	I型	II型	III型	IV型	
e抗原陽性 10例	50.0% 5/10	100.0% 10/10	80.0% 8/10	10.0% 1/10	50.0% 5/10
e抗体陽性 15例	60.0% 9/15	100.0% 15/15	73.3% 11/15	6.7% 1/15	6.7% 1/15

血中 HBs 抗原陽性例肝実質細胞の電顕的研究

例中5例 (50.0%), e 抗体陽性例15例中1例 (6.7%) に核内円形粒子が観察され, e 抗原陽性例に有意に高頻度に見られた (表9)。また症例10においては, 核内にみられた円形粒子と形態学的に同一と思われる円形粒子が, 核膜孔周囲細胞質内, 核からややはなれた細胞質内に数個集まっているのが観察された (図12)。この細胞質内円形粒子と滑面小胞体膜, 小胞体槽との関連は見えなかった。

3. 症 例 (表10)

carrier より B 型肝炎を発症したと思われる症例31において, 発症直後とその後の2度の肝生検を行えたので提示する。

症例31は22才の男で昭和51年4月の献血時に血中の HBs 抗原を指摘され当科受診, 自覚症状もなく, 肝機能検査も GOT 23, GPT 30, LDH 128, 総ビリル

ビン1.0, アルカリフォスファターゼ13.0と正常であった。9月になり, 軽い全身倦怠感とともに GOT 49, GPT 94 と軽度上昇したため第1回肝生検施行。光顕組織像では急性肝炎像を呈し, 電顕像では I 型肝細胞+, II 型肝細胞卅, III 型肝細胞-, IV 型肝細胞-, で核内粒子は観察されなかった。その後自覚症状は改善されたがトランスアミナーゼの異常が続くため昭和52年3月第2回肝生検施行。光顕組織では CIH 像を呈し, 電顕では, I 型肝細胞-, II 型肝細胞卅, III 型肝細胞+, IV 型肝細胞- であり, 核内粒子は発見できなかった (表11)。全経過を通じて血中 e 抗原は陽性であった。

B. 蛍光抗体法による観察と電顕所見との比較

蛍光抗体法による肝組織内 HBs 抗原は, 細胞単位

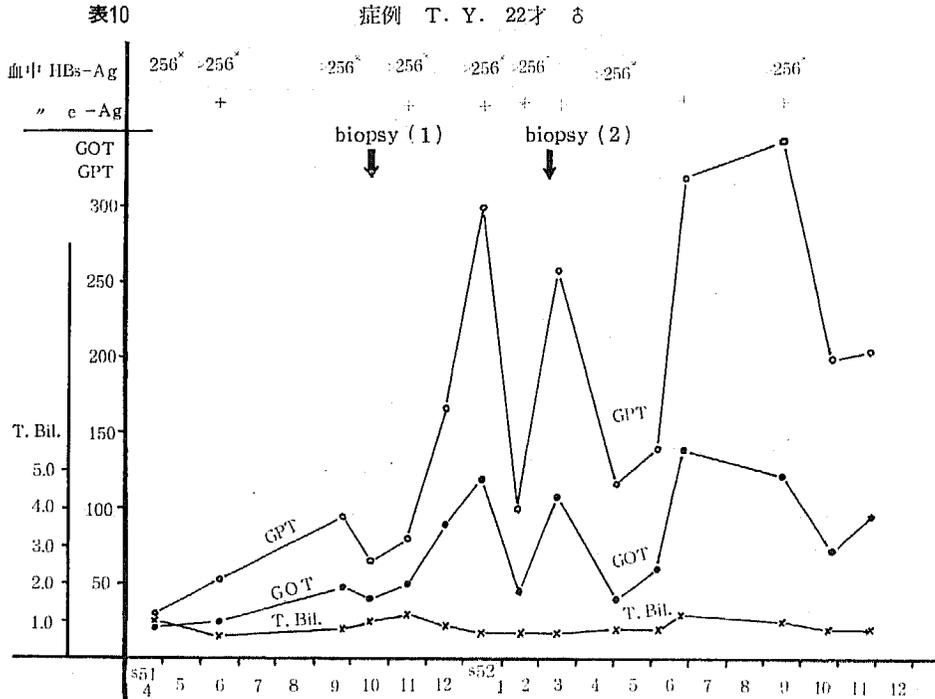


表11 症例 T. Y. 22才 男

	肝実質細胞型				核内粒子
	I型	II型	III型	IV型	
第1回	+	卅	-	-	-
第2回	-	卅	+	-	-

でみると, 肝細胞質にびまん性にみられる細胞質型 (cytoplasmic pattern : C) と肝細胞膜にそってみられる細胞膜型 (membranous pattern : M) とが存在した (図13)。

carrier 例では検索しえた21例中細胞質型4.8%, 細胞膜型52.4%, 両者の混合型42.9%にみられ, 電顕的に I 型肝細胞が多くみられた例では細胞質型, 混合

表12 螢光抗体法による観察

	肝細胞内 HBs 抗原			核内 HBc 抗 原	電 顕 による 核内粒子
	細胞質型	細胞膜型	細胞質 + 細胞膜型		
Asymptomatic HBs-Ag carrier 21 例	4.8 1/21	52.4 11/21	42.9 9/21	47.4 9/19	26.3 5/19
CIH 8 例	28.6 2/7	14.3 1/7	57.1 4/7	62.5 5/8	25.0 2/8
CAH 11 例	72.7 8/11	18.2 2/11	9.1 1/11	81.8 9/11	18.2 2/11
LC 7 例	85.7 6/7	0 0/7	14.3 1/7	28.6 2/7	14.3 1/7

表13 Asymptomatic HBs-Ag carrier

	肝細胞内 HBs 抗原			核内 HBc 抗 原	電 顕 による 核内粒子
	細胞質型	細胞膜型	細胞質 + 細胞膜型		
e 抗原陽性例 8 例	0 0/8	37.5 3/8	62.5 5/8	75.0 6/8	50.0 4/8
e 抗体陽性例 13 例	7.7 1/13	61.5 8/13	30.8 4/13	27.3 3/11	9.1 1/11

型が多くみられる傾向があった(表12)。慢性肝疾患では、検索25例中細胞質型64.0%、細胞膜型12.0%、混合型24.0%であり、電顕的にI型肝細胞がほとんどみられなかったにもかかわらず、細胞質型が多くみられ、carrier例との間に差がみられた。e抗原陽性carrier例とe抗体陽性carrier例の間では、e抗体陽性のcarrier例に細胞膜型が多い傾向がみられた(表13)。

核内HBc抗原はcarrier 47.4%、CIH 62.5%、CAH 81.8%、LC 28.6%にみられ、電顕的に核内円形粒子を認めたcarrier 26.3%、CIH 25.0%、CAH 18.2%、LC 14.3%に比し、いずれも高率である。e抗原陽性carrier例では75.0%、e抗体陽性carrier例では27.3%に核内HBc抗原がみられ、電顕的にe抗原陽性例の50.0%、e抗体陽性例の9.1%に核内円形粒子がみられたことと合わせ、いずれもe抗原陽性carrier例に有意に高率にみられた。

IV. 考 按

血中HBs抗原陽性例に特徴的な肝実質細胞の電顕所見は、1970年Nowoslawskiら¹⁾がlymphoproliferative disorderに合併したB型肝炎例で、肝細胞核内に認められた直径20~27nmの円形粒子と、1972年Steinら²⁾がcarrier例の肝細胞細胞質内sER内に認められた直径35nm、長さ100~1000nmの線維様構造物および直径35nmの円形構造物とが報告されている。

A. 核内円形粒子

今回の検索では全57例中11例(19.3%)の肝実質細胞核内に直径20~27nmの円形粒子を観察した。この粒子は中空構造をとるものが多く、一部に均一な構造のものもみられるなど、形態学的にNowoslawskiら¹⁾の言う核内円形粒子と同一のものと考えられる。同様の核内円形粒子は、Nowoslawskiらの報告以後、

Caramia ら¹⁷⁾, 上村ら¹⁸⁾¹⁹⁾, 鈴木ら²⁰⁾が carrier 例に, Nelson ら²¹⁾, Huang ら³⁾, Dunn ら²²⁾, Scotto ら⁴⁾が B 型急性肝炎例に, Huang ら³⁾, 上村ら²³⁾が慢性肝炎例, 肝硬変例に, Campion ら²⁴⁾が肝癌例に各々観察しており, 血中 HBs 抗原陰性例には発見されていない。その本体については, Nowoslawski ら¹⁾, Huang ら³⁾, Scotto ら⁴⁾は, Dane²⁵⁾が B 型急性肝炎例血清中に発見した直径 22nm の小形粒子と同一のものであろうとしている。Huang ら⁵⁾は慢性肝炎例の肝ホモジネートから得た直径 27~29nm の粒子が血中 Dane 粒子の core と形態学的に一致し, 免疫学的に同一の抗原, HBc 抗原を持つことを示し, Gudat ら²⁶⁾, 上村ら²³⁾は同一例の蛍光抗体法と電顕との対比によって核内粒子が Dane 粒子の core と同一の抗原性をもつことを示している。現在までのところ, 核内にある円形粒子の抗原性を免疫電顕法によって証明した報告はないが, 以上のことから核内円形粒子は Dane 粒子の core であり, HBc 抗原を持つと考えられる。今回の蛍光抗体法による観察で核内 HBc 抗原を証明しえたのは検索45例中25例 (55.6%) であり, 電顕的に核内円形粒子が観察されたのは同じ45例中では10例 (22.2%) であり, 両者の出現率に差がみられるが, 蛍光抗体法で HBc 抗原が証明されなかった例では核内粒子は全く観察されず, 核内円形粒子が観察された例では全例蛍光抗体法で核内に HBc 抗原が証明されており, 両者間の密接な関係を示唆している。蛍光抗体法で核内に HBc 抗原が証明される肝細胞は, 小葉内に散在性に少数みられることが多く, 電顕による核内円形粒子との出現率の差は, 前者が小葉レベルでの検索であるのに対して, 後者が個々の細胞レベルでの検索によるものであるためと思われる。

carrier 例と慢性肝炎患例の間には, 核内円形粒子の出現率の有意の差はみられなかったが, e 抗原陽性 carrier と e 抗体陽性 carrier の間では, 前者に有意に高い出現率がみられる。蛍光抗体法による核内 HBc 抗原も同様に e 抗原陽性 carrier に有意に多く証明されており, e 抗原と核内円形粒子および核内 HBc 抗原との間の密接な関係を示している。Trepo ら²⁷⁾も蛍光抗体法による核内 HBc 抗原と血中 e 抗原との高い相関性を報告し, 市田ら²⁸⁾, El Sheikh ら²⁹⁾は e 抗原陽性血清がより多くの Dane 粒子を含む事を示しており, 両者間の関連を示唆している。

円形粒子は多くの例で核内にびまん性に分布していたが, 症例 2 では核内の一部に集合してみられ, 症例

10では核膜孔近くの細胞質内に数個の円形粒子を認め, 核からややはなれた細胞質基質内にも数個みられた。しかし粒子の結晶状配列はみられず, sER 内にも観察されなかった。細胞質内の同様な粒子は Huang ら³⁰⁾, 上村ら³¹⁾, Stein ら³²⁾も報告しており, 核内で増殖し核膜孔から細胞質内へ移行したと考えられる所見である。上村ら¹⁹⁾によりこの円形粒子がキャプソム様サブユニットを持ち, ウィルス粒子に類似の形態を持つことが示されているが, 核内増殖して粒子形成を行い形態もこの円形粒子に近いと思われるアデノウィルスにみられる様な, ウィルス粒子の結晶状配列が今回の検索でも観察されなかったこと, 中空構造のものが多く増殖しつつあるウィルス粒子の形態としては特異であることなど, この円形粒子がウィルス粒子であるか否か疑問が残り, さらに検討の必要がある。

B. 滑面小胞体の形態

肝実質細胞内 sER は, 肝細胞内物質運搬, 解毒機構に関与しており, その形態変化として数の増減, 空胞化, 小胞体槽の拡張, fragmentation, 破壊などが観察されている³³⁾⁻³⁷⁾。sER の数の増加は毒物投与例に多く報告されており Ross³⁸⁾が Halothane 投与ラット肝に, Loker³⁹⁾が Phenobarbital 投与ハムスター肝に, Unakar⁴⁰⁾が p-hydroxypropionophenone 投与マウス肝に, Lafontaine⁴¹⁾が Azo 2-Me-DAB 投与ラット肝に, 渡⁴²⁾が BHC 投与ラット肝に, 山元⁴³⁾が塩化ビフェニール投与ラット肝およびヒト肝に, Stenger⁴⁴⁾が CCl₄ 投与ラット肝に, 谷川³⁵⁾, 安倍⁴⁵⁾が Phenobarbital 中毒ヒト肝に各々報告している。しかしこれら毒物投与例における増加した sER の個々の形態は, 膜の不整が強く, 小胞体槽内の電子密度はごく低く, 今回著者が認めた円形ないし類円形の sER で小胞体槽内に無定形構造物等を入れているものとは形態学的に異なっている。谷川³⁵⁾の示した Phenobarbital 中毒肝では今回著者が観察した III 型肝細胞に近い形態がみられるが, 小胞体槽内は中空であり, III 型肝細胞とは異なっている。毒物投与例のほか sER の拡張, 増加は, 谷川³⁵⁾⁴⁶⁾が肝硬変例の結節内肝細胞, 肝癌細胞に, 安倍⁴⁵⁾が Gilbert 病, Dubin-Johnson 症候群, Rotor 症候群に, Stenger³⁴⁾がエタノール投与肝に各々観察している。これらの sER は類円形であるが, 小胞体槽内電子密度は低く中空構造となっており, 今回の血中 HBs 抗原陽性例にみられた sER の形態とはやや異なっている。血中 HBs 抗原陽性例

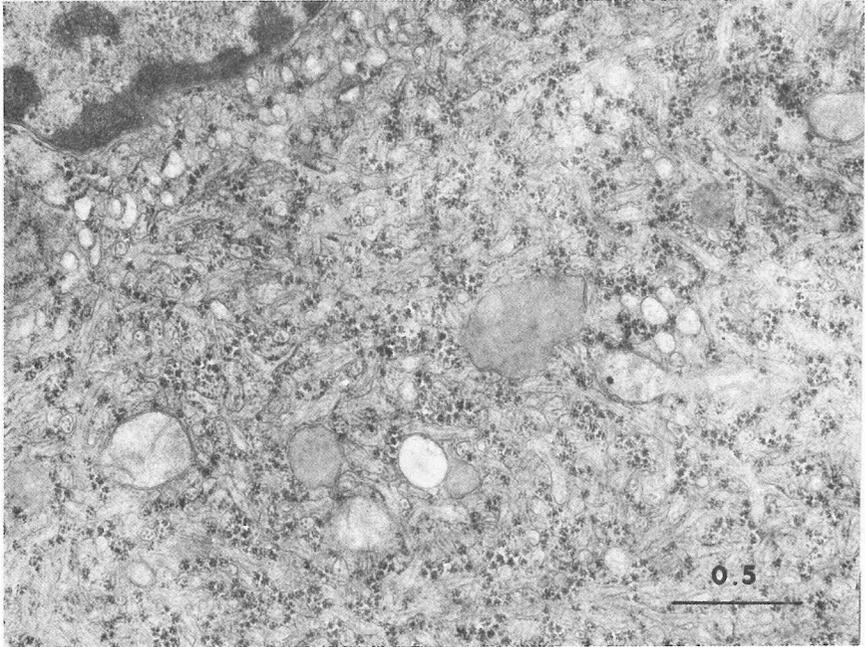


図 1 I型肝細胞。sERは増加し、小胞体槽内に直径25~35nm、長さ100~1000nmの線維様構造物およびその断面とおもわれる直径25~35nmの円形構造物を入れている。

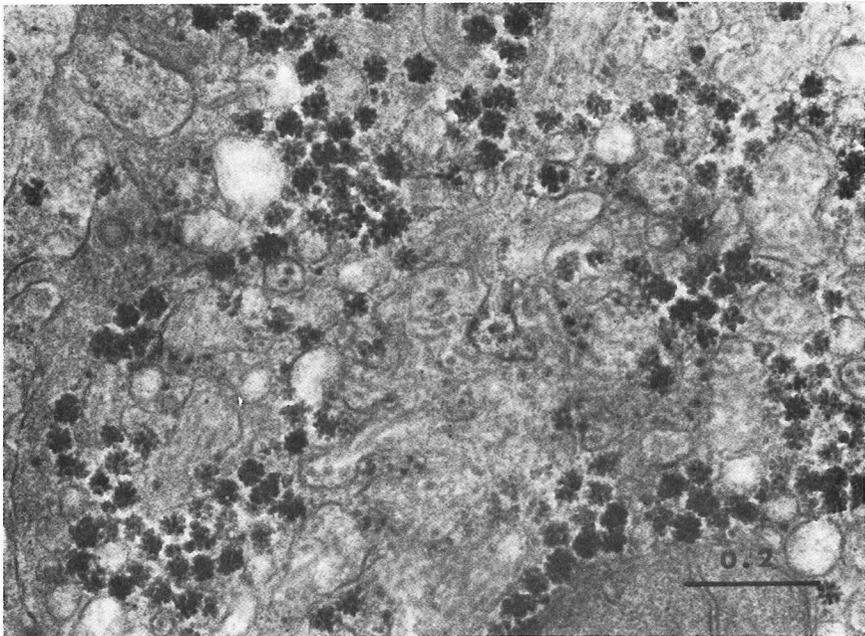


図 2 I型肝細胞。sER内に線維様構造物および円形構造物を入れている。

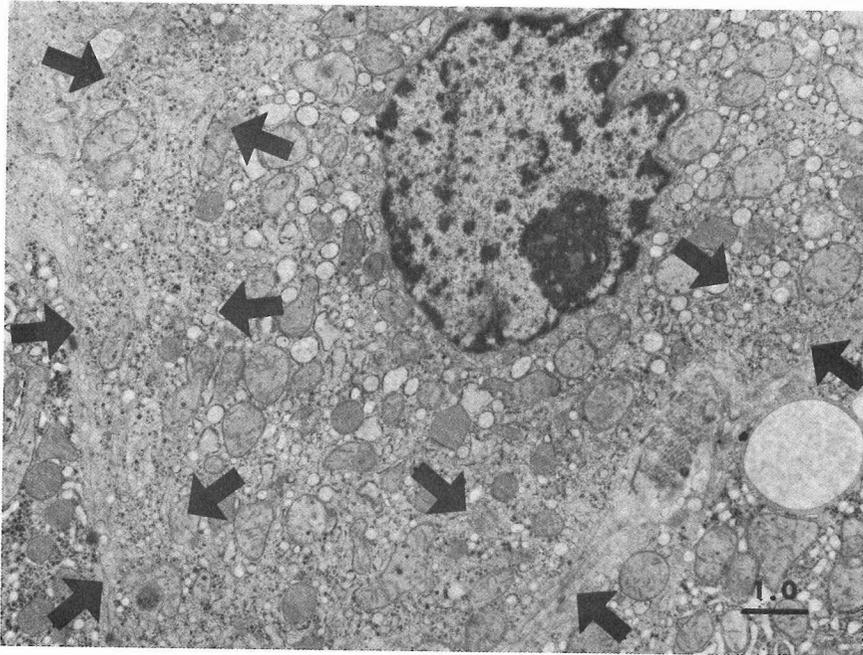


図 3 I 型肝細胞。細胞膜にそって、線維様構造物および円形構造物を入れる sER が分布している (矢印でかこまれた部分)。

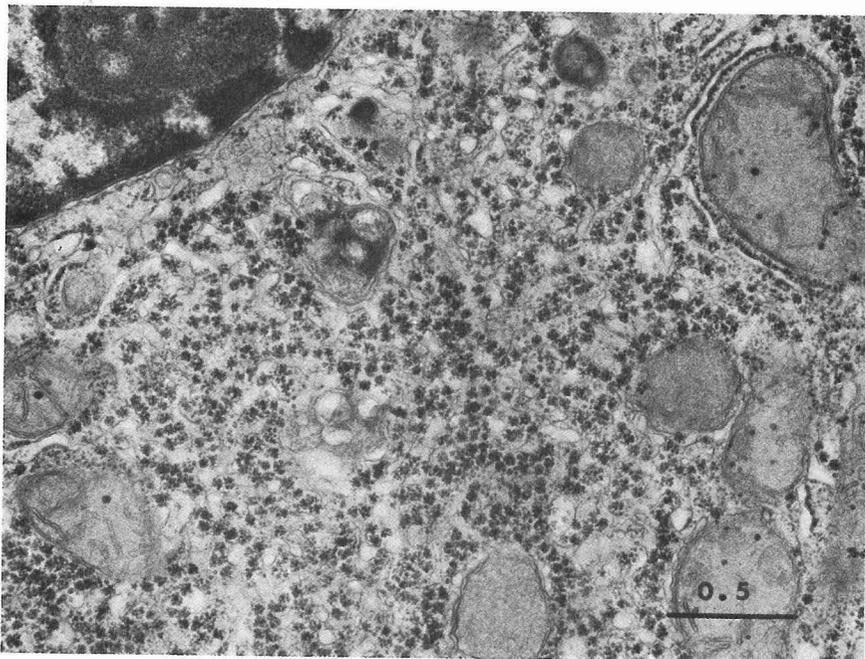


図 4 II 型肝細胞。sER は増加しているが、小胞体槽内に線維様構造物等はみられず、無定形構造物を入れている。

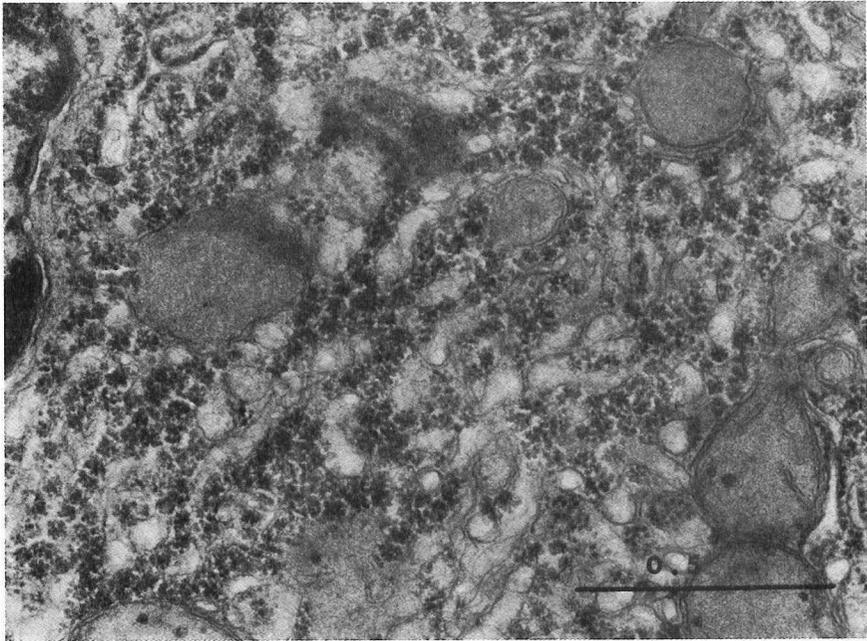


図 5 II 型肝細胞。s E R 内の無定形構造物は、中等度の電子密度をもち、小胞体槽内に不均一に分布している。

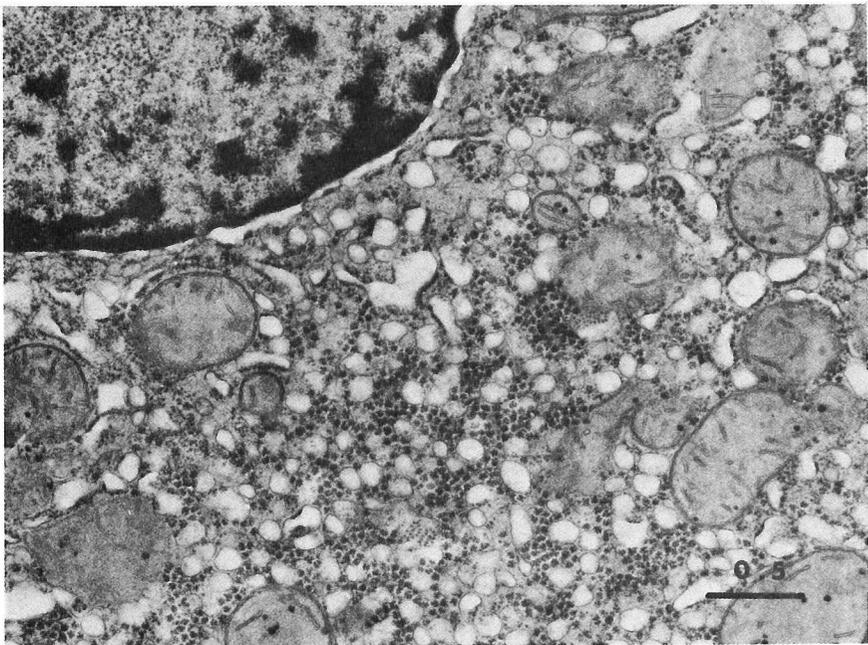


図 6 III 型肝細胞。増加した s E R 内にごくわずかの無定形構造物をいれている。

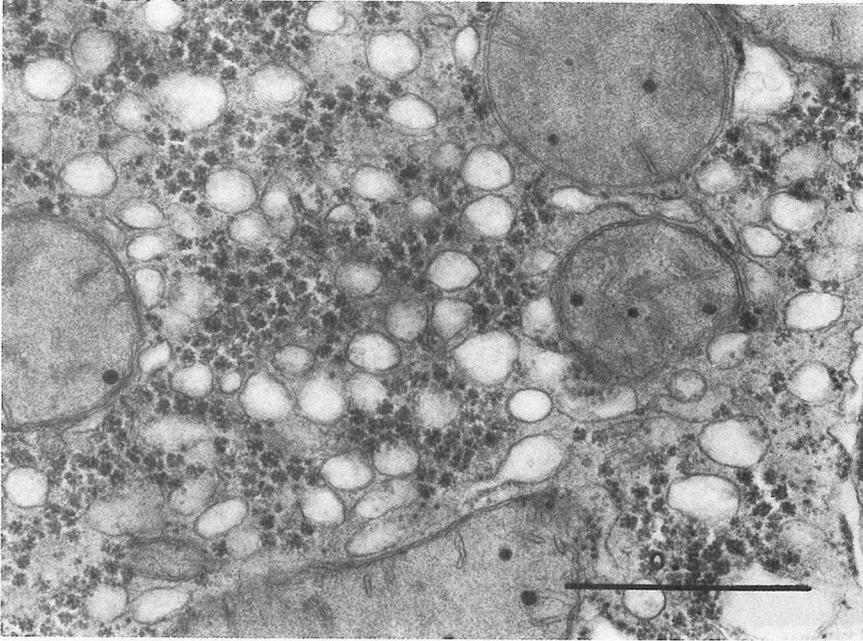


図 7 III 型肝細胞。s E R 内の無定形構造物はごくわずかで、s E R 膜近くに分布している。

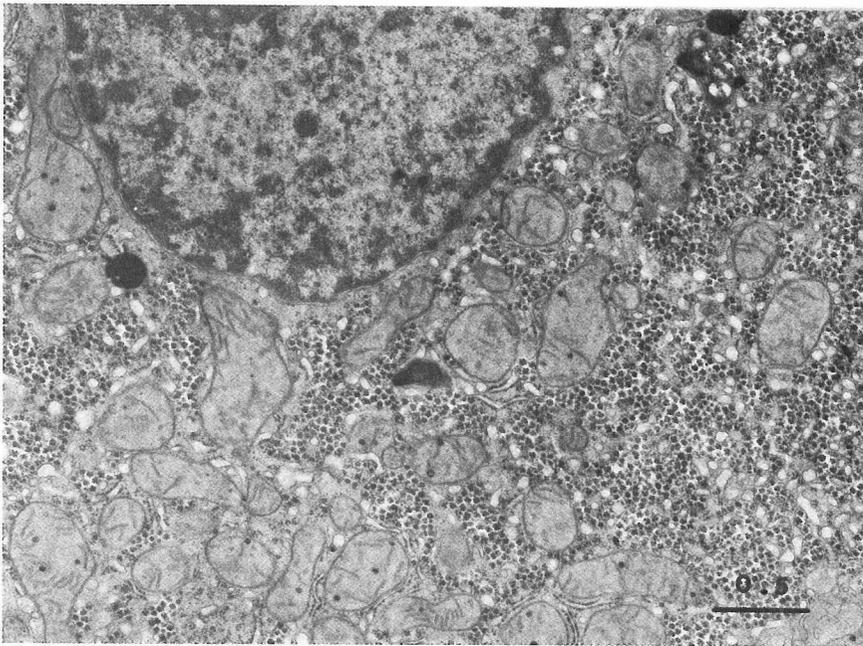


図 8 ほぼ正常と思われる肝細胞。s E R の増加，糸粒体の減少等は見られない。

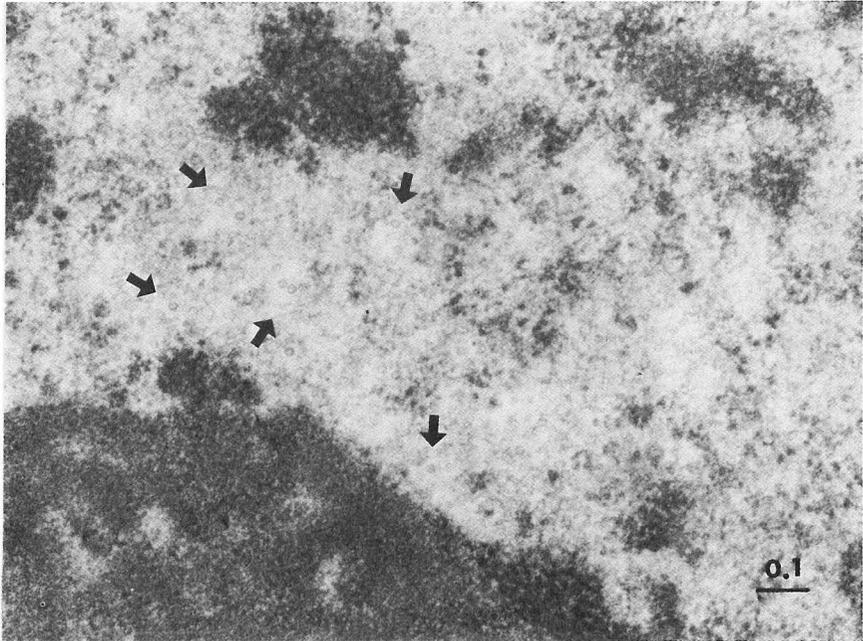


図9 核内円形粒子。直径20~27nmで中心部が周辺部に比し電子密度が低く中空状に見えるもの、ほぼ均一な電子密度をもつものがみられる。

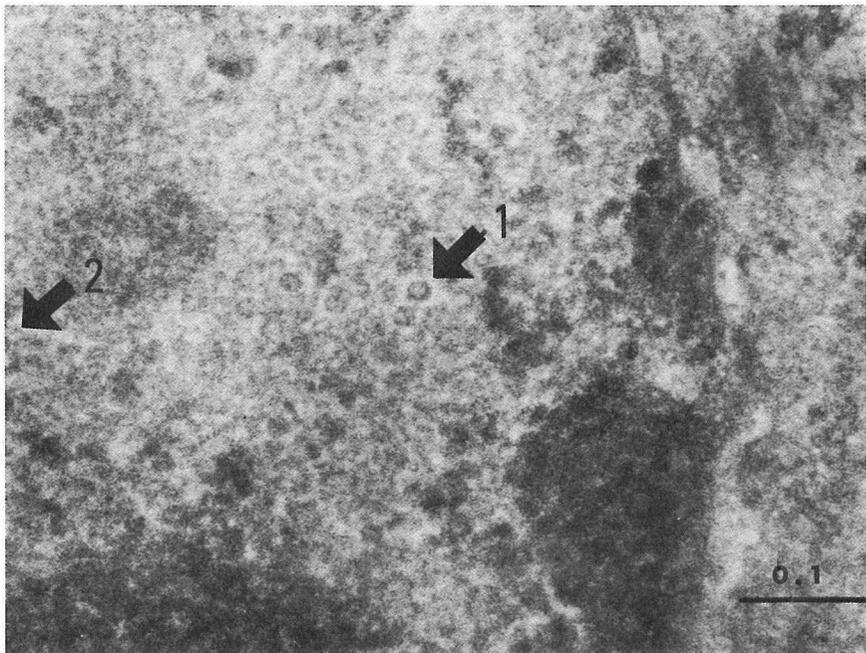


図10 核内円形粒子。中空状の粒子(矢印1)と均一な電子密度をもつ粒子(矢印2)がみられる。

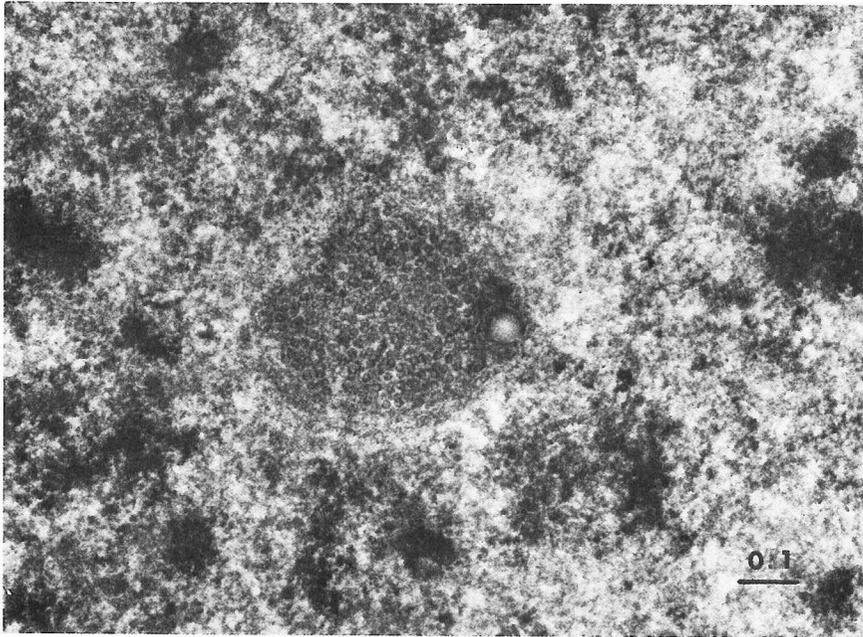


図11 症例2にみられた核内円形粒子。核内に集簇して円形粒子がみられる。

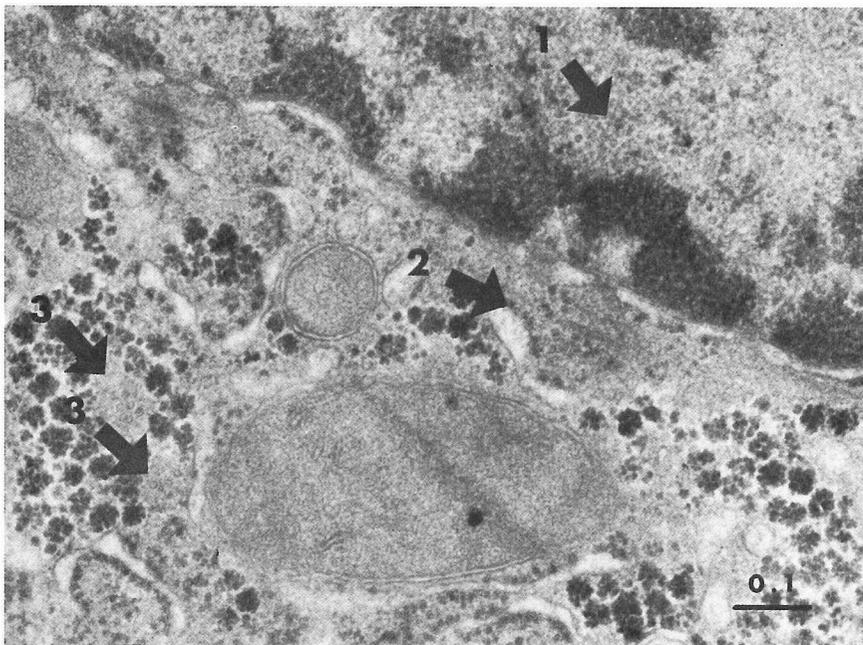
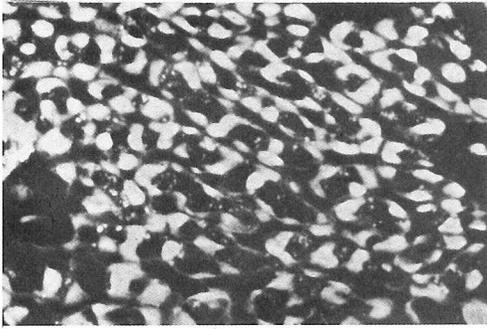
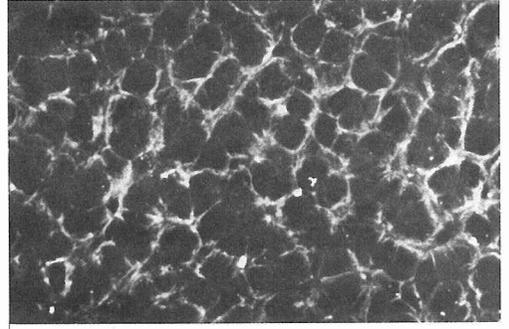


図12 症例10にみられた円形粒子。核内に散在性にみられる(矢印1)、核膜孔近くの細胞質内(矢印2)、核からやや離れた細胞質内(矢印3)にも同様の粒子がみられる。



a. 細胞質型：肝実質細胞の細胞質内に封入体様あるいは、びまん性に HBs 抗原がみられる。(×300)



b. 細胞膜型：肝実質細胞の細胞膜にそって HBs 抗原がみられる。(×450)

図13 蛍光抗体法による肝内 HBs 抗原の局在

における sER の形態変化については、Stein⁴⁷⁾が21例の carrier 中13例に sER の増加を認め、著者のいう I 型および III 型肝炎細胞を示しているが、III 型肝炎細胞の意義については言及していない。

今回 I 型肝炎細胞内 sER 内に観察された線維様構造物および円形構造物は、Stein ら²⁾が carrier 例に報告して以来、Huang ら⁴⁶⁾が CAH 例に、上村ら⁴⁹⁾、田中ら⁵⁰⁾、石田ら⁵¹⁾が carrier 例に報告しているものと形態学的に同一と思われる。その本体について、Huang ら⁵⁾は肝組織のホモジネートの電顕観察で Dane 粒子の外被と線維様構造物が連続している像を示し、Huang ら⁵²⁾、上村ら²³⁾も sER 内に Dane 粒子と考えられる粒子を観察しこの外被と線維様構造物とが連続している像を示し、上村ら²³⁾が同一例でアルデヒドフクシン染色、蛍光抗体法、電顕所見を対比しこの線維様構造物と HBs 抗原の間に密接な関係があることを示している。Gerber ら⁶⁾は、ペルオキシダーゼ抗体法による免疫電顕法で sER の膜とその中の線維様構造物と円形構造物が HBs 抗原決定基をもつことを示したが、川生ら⁵³⁾の追試では確認されていない。さらに、Sriurairatna⁵⁴⁾はテング熱ウイルスを新生マウスの脳内に接種して感染させ、神経細胞内 sER 中に形態学的に今回 I 型肝炎細胞 sER 中にみられたと同様の線維様構造物を観察しており、かならずしも HBs 抗原陽性例に特徴的とはいえないが、今回のこの線維様構造物は、HBs 抗原決定基を持ち、Dane 粒子の外被である可能性がある。今回の検索では、この線維様構造物と核内円形粒子、細胞質内円形粒子との関連を思わせる所見は観察されなかった。

carrier 例では蛍光抗体法で肝細胞内 HBs 抗原の認められた21例中12例 (57.1%) に電顕的に I 型肝炎細胞が観察され、慢性肝疾患に比し有意に高率である。carrier からの発症と考えられる症例31では、発症のごく初期の肝組織中に I 型肝炎細胞が認められたが、発症9ヶ月後光顕的に CIH 像を呈した時期には I 型肝炎細胞は観察されなかった。Stein ら⁴⁷⁾は21例の carrier 中11例に、Gerber ら⁵⁵⁾は14例の carrier 中12例に、著者の I 型肝炎細胞と同様の肝細胞を観察しており、B 型肝炎、慢性肝炎例での報告はすくなく、I 型肝炎細胞は carrier 例により高率に認められている。

以上から、I 型肝炎細胞 sER 内の線維様構造物および円形構造物は carrier という特殊な状況での肝内 HBs 抗原関連形態である可能性がある。carrier 例においては、I 型肝炎細胞の中で、増加した sER とその中の線維様構造物および円形構造物が封入体様あるいは細胞質内にびまん性に分布するものが、蛍光抗体法で HBs 抗原が細胞質型に証明される肝細胞に対応すると思われる。蛍光抗体法で細胞膜型に HBs 抗原が証明されるものは、電顕的に細胞膜近くの sER のみに線維様構造物、円形構造物を入れる肝細胞に対応する可能性があり、上村ら⁴⁹⁾も同様に考えているが、今回電顕的に観察されたのは1例の1肝細胞にすぎず、蛍光抗体法で細胞膜型は52.4%に証明されていることとあわせ、さらに検討が必要である。

慢性肝疾患例において、蛍光抗体法で細胞質に HBs 抗原が64.0%に証明されているが、電顕的に I 型肝炎細胞は25例中1例にのみ観察されただけであり対

応がみられない。Ⅱ型肝細胞は25例中24例(96.0%)に観察され、carrier例でも21例中Ⅱ型肝細胞は全例に観察されており、蛍光抗体法での細胞質型に対応する可能性がある。Ⅱ型肝細胞における sER の形態、分布様式がⅠ型肝細胞に類似しており、Ⅱ型肝細胞 sER 内の無定形構造物は、血中 HBs 抗原陽性例における肝内 HBs 抗原関連物質である可能性も考えられる。Thomsen ら⁵⁶⁾は、血中 HBs 抗原陰性例の Ground glass hepatocyte において著者のいうⅡ型肝細胞類似の sER の増殖した像を示し、HBs 抗原陽性例の Ground glass hepatocyte との差は、sER 内に線維様構造物および円形構造物がないことだけであるとしており、Ⅱ型肝細胞の免疫電顕法による検索が必要である。

C. e 抗原, e 抗体と肝微細構造

1972年 Magnus⁷⁾により、HBs 抗原陽性血清中に検出された e 抗原・抗体系の臨床的意義について多くの報告がある。志方⁹⁾によるチンパンジーへの感染実験、岡田⁸⁾の母児間垂直感染例において、血中 e 抗原陽性例は e 抗体陽性例に比し高い感染性を示し、中村⁵⁷⁾により慢性肝炎患例では、carrier 例に比し高率に e 抗原が証明されている。今回の検索では、蛍光抗体法による核内 HBc 抗原は e 抗原陽性例に有意に多く観察され、電顕による核内円形粒子も e 抗原陽性例に有意に多く観察されている。これは、Trepo²⁷⁾の成績と一致し、e 抗原陽性 carrier 例において、Dane 粒子の core と考えられる核内円形粒子が e 抗体陽性 carrier 例に比し多量に存在しており、市田²⁸⁾、El Sheikh²⁹⁾のいう e 抗原陽性血清中に Dane 粒子が高濃度に観察されることの肝組織内での対応像であろうと思われる。肝細胞各型の出現率の比較で、e 抗原陽性例は e 抗体陽性例に比し、Ⅰ型肝細胞が少なく、Ⅱ、Ⅲ型肝細胞が多くみられる傾向があり、慢性肝炎患例に類似のパターンを示した。このことは、carrier 例の経過、予後への e 抗原の関与を示唆する所見と考えられる。

V. 結 語

血中 HBs 抗原陽性例57例の肝組織を電子顕微鏡により観察し、次の様な結果をえた。

A. 血中 HBs 抗原陽性例の電顕所見として、直径 20~27nm の核内および細胞質内円形粒子、sER 内に直径 35nm、長さ 100~1000nm の線維様構造物および直径 35nm の円形構造物、sER の増加がみられ、こ

れらにより肝細胞をⅠ~Ⅳ型に分類できた。carrier 例ではⅠ、Ⅱ型肝細胞が多く、慢性肝炎患例ではⅡ、Ⅲ型肝細胞が多い傾向がみられた。この所見と蛍光抗体法による所見とを比較し、Ⅰ型肝細胞は carrier 例において、Ⅱ型肝細胞は血中 HBs 抗原陽性例において、各々 HBs 抗原関連物質をその sER 内に含んでいる可能性が示唆された。

肝内円形粒子は57例中11例(19.3%)の肝細胞核内と1例の肝細胞質基質内に観察され、HBc 抗原との密接な関係が示唆された。

B. e 抗原陽性 carrier 例では、e 抗体陽性 carrier 例に比し、核内 HBc 抗原と核内円形粒子がともに高率に認められ、肝細胞型分類では慢性肝炎患例に類似のパターンを示した。

(本論文の要旨は、昭和50年9月第141回日本消化器病学会関東甲信越地方会、昭和51年6月第12回日本肝臓学会総会、昭和52年6月第13回日本肝臓学会総会において報告した。)

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜りました小田正幸教授に深甚なる謝意を表します。また終始御指導御鞭達をいただいた古田精市助教授、御協力いただいた肝臓研究班の諸先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) Nowoslawski, A., Brazosko, W. J., Madalinski, K., Krawczynski, K.: Cellular localization of Australia antigen in the liver of patient with lymphoproliferative disorder. *Lancet*, I: 494-498, 1970
- 2) Stein, O., Fainaru, M., Stein, Y.: Visualization of virus-like particles in endoplasmic reticulum of hepatocytes of Australia antigen carriers. *Lab. Invest.*, 26: 262-269, 1972
- 3) Huang, S. N.: Hepatitis associated antigen hepatitis. An electron microscopic study of virus like particles in liver cells. *Amer. J. Path.*, 64: 483-500, 1971
- 4) Scotto, J. M., Homberg, J. C., Caroli, J.: Electron microscopy studies of severe hepatitis. *Amer. J. Dis. Child.*, 123: 311-314, 1972
- 5) Huang, S. N., Groh, V.: Immunoagglutination electron microscopic study on virus-like

- particles and Australia antigen in liver tissue. *Lab. Invest.*, 29 : 353-366, 1973
- 6) Gerber, M. A., Hadziyannis, S., Vissoulis, C., Shaffner, F., Paronetto, F., Popper, H. : Electron microscopy and immunoelectron-microscopy of cytoplasmic hepatitis B antigen in hepatocytes. *Amer. J. Path.*, 75 : 489-502, 1974
- 7) Magnius, L. O., Espmarl, J. A. : New specificities in Australia antigen-positive sera distinct from the Le Bouvier determinants. *J. Immunol.* 109 : 1017-1021, 1972
- 8) Okada, K., Kamiyama, I., Inomata, M., Imai, M., Miyakawa, Y., Mayumi, M. : e-Antigen and anti-e in the serum of asymptomatic carrier mothers as indicators of positive and negative transmission of hepatitis B virus to their infants. *New Engl. J. Med.* 294 : 746-749, 1976
- 9) 志方俊夫, 柄沢 勉, 阿部賢治, 鶴沢輝子, 真弓忠, 今井光信, 鈴木 宏, 織田敏次 : e 抗原陽性及び陰性 B 型肝炎 carrier 血清の感染性に関する研究. *肝臓*, 18 : 388, 1977
- 10) 古田精市, 大森晶彦, 長田教夫, 月岡寿一郎, 高橋俊博, 清沢研道, 赤羽賢浩, 小池ゆり子, 佐原勲, 飯島義浩, 古川賢一, 小田正幸, 花岡脩三 : HB 抗原の Asymptomatic carrier と Healthy carrier. *日本臨床*, 32 : 3488-3494, 1974
- 11) 古田精市, 花岡脩三, 大森晶彦, 千葉 恭, 月岡寿一郎, 長田教夫, 高橋俊博, 清沢研道, 赤羽賢浩, 小田正幸 : 肝疾患における血中および肝組織中オーストラリア抗原について. *肝臓*, 13 : 280-287, 1972
- 12) 清沢研道, 古田精市, 長田教夫, 高橋俊博, 赤羽賢浩, 小池ゆり子, 佐原 勲, 古川賢一, 渡辺知之, 原 正子, 飯島義浩, 大森晶彦, 小田正幸 : 各種肝疾患における肝内 Hepatitis B core 抗原の検索とその臨床的意義. *肝臓*, 16 : 607-611, 1975
- 13) Luft, J. H. : Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9 : 409-414, 1961
- 14) Mollenhauer, H. H. : Plastic embedding mixture for use in electron microscopy. *Stain Technol.*, 39 : 111-114, 1964
- 15) Watson, M. L. : Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4 : 475-478, 1958
- 16) Reynolds, E. S. : The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17 : 208-211, 1963
- 17) Caramia, F., De Bac, C., Ricci, G. : Virus-like particles within hepatocytes of Australia antigen carriers. : *Amer. J. Dis. Child.*, 123 : 309-311, 1972
- 18) 上村朝輝, 村山久夫, 佐々木博, 市田文弘 : HB 抗原の Asymptomatic carrier における肝細胞の電顕的研究 (2). *肝臓*, 15 : 274, 1974
- 19) 上村朝輝, 村山久夫, 佐々木博, 市田文弘 : HB 抗原の Asymptomatic carrier における肝細胞の電顕的研究 (4). *肝臓*, 16 : 169, 1975
- 20) 鈴木司郎, 田中 慧, 三浦賢佑, 松本 明 : HB 抗原に関する形態学的研究. *日本臨床*, 32 : 3463-3471, 1974
- 21) Nelson, J. M., Barker, L. F., Danovitch, S. H. : Intranuclear aggregates in the liver of a patient with serum hepatitis. *Lancet*, II : 773-774, 1970
- 22) Dunn, A. E., Peters, R. L., Schweitzer, I. L., Spears, R. L. : Virus-like particles in livers of infants with vertically transmitted hepatitis. *Arch. Path.*, 94 : 258-264, 1972
- 23) 上村朝輝, 村山久夫, 佐々木博, 市田文弘 : HB 抗原の電顕像. *綜合臨床*, 24 : 2319-2329, 1975
- 24) Campion, E. C., Ludbrook, J., McLeod, G. M. : Primary hepatoma and hepatitis-associated antigen in a young white woman. *Brit. med. J.*, 4 : 149-152, 1972
- 25) Dane, D. S., Cameron, C. H. : Virus-like particles in serum of patients with Australia antigen-associated hepatitis. *Lancet*, I : 695-698, 1970
- 26) Gudat, F., Bianchi, L., Sonnabend, W., Thiel, G., Aenishaenslin, W., Stalder, G. A. : Pattern of core and surface expression in liver tissue reflect state of specific immune response in hepatitis B. *Lab. Invest.*, 32 : 1-9, 1975

- 27) Trepo, C. G., Magnius, L. O., Schaffer, R. A., Prince, A. M.: Correlations with hepatitis B surface and hepatitis B core antigens, liver diseases, and outcome in hepatitis B infections. *Gastroenterology*, 71: 804-808, 1976
- 28) 市田文弘, 佐々木博, 井上恭一, 関根輝夫, 藤田馨士, 吉川 明: B型肝炎におけるe抗原, e抗体の臨床的意義, 日内会誌, 65: 1271-1272, 1976
- 29) El Scheikh, N., Woolf, I. L.: e Antigen-antibody system as indicator of liver damage in patients with hepatitis B antigen. *Brit. med. J.*, IV: 259-260, 1975
- 30) Huang, S. H., O'Connell, A., Aronoff, A., Gault, H., Blumberg, B. S.: Virus-like particles in Australia antigen associated hepatitis. *Amer. J. Path.*, 67: 453-470, 1972
- 31) 上村朝輝, 村山久夫, 佐々木博, 市田文弘: HB抗原の Asymptomatic carrier における肝細胞の電顕的研究(3). 肝臓, 16: 168, 1975
- 32) Stein, O., Fainaru, M., Stein, Y.: Virus-like particles in the cytoplasm of the livers of Australia antigen carriers. *Amer. J. Dis. Child.*, 123: 313-314, 1972
- 33) Palmos, A. M., Le Buis, J., Barnhard, W.: Electron microscopy of adenovirus 12 replications. *J. Virol.*, 1: 817-829, 1967
- 34) Stenger, R. J.: Organelle pathology of the liver. *Gastroenterology*, 58: 554-574, 1970
- 35) 谷川久一: 肝細胞の病態. 細胞, 3: 12-21, 1971
- 36) Trump, B. F., Kim, K. M., Jones, R. T., Valigorski, J. M.: Pathology of organelles in the human hepatic parenchymal cell. In "Progress in liver diseases" pp.51-68, Eds. Popper, H., Schaffner, F. Grune & Stratton, New York, San Francisco, London, 1968
- 37) Jones, A. L., Schmucker, D. L.: Current concept of liver structure as related to function. *Gastroenterology*, 73: 833-851, 1977
- 38) Ross, W. T., Cardell, R. R.: Effects of Halothane on the ultrastructure of rat liver cells. *Amer. J. Anat.*, 135: 5-22, 1970
- 39) Loker, E., Scallen, T. J., Dietert, S. E.: Phenobarbital-induced proliferation of smooth endoplasmic reticulum after administration of triparanol. *Anat. Rec.*, 168: 221-232, 1970
- 40) Unakar, N. J.: P-hydroxypropiophenone effects on azo dye induced alterations in mouse hepatic cells. *J. Nat. Cancer Inst.*, 44: 873-890, 1969
- 41) Lafontaine, J. G., Allard, C.: A light and electron microscope study of the morphological changes induced in rat liver cells by the Azo 2-ME-DAB. *J. Cell Biol.* 22: 143-172, 1964
- 42) 渡 仲三: BHC 汚染と細胞. 細胞, 7: 186-198, 1975
- 43) 山元寅男: 塩化ビフェニールと肝細胞滑面小胞体. 細胞生物学シンポジウム, 21: 87-96, 1970
- 44) Stenger, R. J.: Hepatic parenchymal cell alterations after longterm carbon tetrachloride administration. *Amer. J. Path.*, 43: 867-895, 1963
- 45) 安倍弘彦: フェノバルビタールの肝臓に及ぼす影響についての臨床実験的観察. 肝臓, 11: 391-401, 1970
- 46) Tanikawa, K.: Ultrastructural aspects of the liver and its disorders. Igaku-Shoin, Tokyo, 1968
- 47) Stein, O., Fainaru, M., Stein, Y.: Visualization of virus-like particles in endoplasmic reticulum of hepatocytes of Australia antigen carriers. *Lab. Invest.*, 26: 262-269, 1971
- 48) Huang, S. N., Groh, V.: A study on antibodies produced with liver tissue containing Australia antigen and virus like particles. *Lab. Invest.*, 29: 743-750, 1973
- 49) 上村朝輝, 村山久夫, 佐々木博, 市田文弘: HB抗原の Asymptomatic carrier における肝細胞の電顕的研究(1). 肝臓, 15: 273, 1974
- 50) 田中 慧, 脇坂行一, 山本俊夫, 中川忠幸, 三浦賢佑, 松本 明, 鈴木司郎: HBs-Ag carrier 肝実質細胞における核内ウィルス様粒子と細胞質内フィラメント構造の共存. 肝臓, 15: 694, 1974
- 51) 石田名香雄: オーストラリア抗原と肝炎ウィルス

- ス. 日本臨床, 30 : 1108-1116, 1972
- 52) Huang, S. M., Groh, V. : A study of the relationship of virus like particles and Australia antigen in liver. *Human Path.*, 5 : 209-222, 1974
- 53) 川生 明, 志方俊夫 : 超薄切片におけるオルセイン及びアルデヒドフクシン染色. *肝臓*, 18 : 965, 1977
- 54) Sriurairatna, S., Bhamarapravati, N. : Phalavadntana, O. : Dengue virus infection of mice : Morphology and morphogenesis of Dengue type-2 virus in suckling mouse neurons. : *Inf. Immunity*, 8 : 1017-1028, 1973
- 55) Gerber, M. A., Hadziyannis, S., Vissoulis, C., Shaffner, F., Paronetto, F., Popper, H. : Hepatitis B antigen. Nature and distribution of cytoplasmic antigen in hepatocytes of carriers. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 145 : 863-867, 1974
- 56) Thomsen, P., Poulsen, H., Petersen, P. : Different types of ground glass hepatocytes in human liver biopsies. *Scand. J. Gastroent.*, 11 : 113-119, 1976
- 57) 中村正憲, 大河内一雄, 古賀俊逸, 入佐俊武, 井林博 : 肝疾患における e 抗原および e 抗体の臨床的研究. *肝臓*, 18 : 540-547, 1977

(53. 6. 15 受稿)