

原 著

扁桃組織における免疫学的応答

第二篇 扁桃抽出液における抗体の検索

河原田 和 夫

信州大学医学部耳鼻咽喉科学教室

IMMUNOLOGICAL RESPONSE OF TONSIL  
II. THE ANTIBODY OF TONSILLAR EXTRACT

Kazuo KAWARADA

Department of Otolaryngology, Faculty of Medicine,  
Shinshu University

KAWARADA, K. *Immunological response of tonsil. II. The antibody of tonsillar extract.* Shinshu Med. J., 27 : 434-439, 1979

To know the immunological role of tonsils, antibodies against certain viruses were sought in the extracts of tonsils removed from children and adults.

With 27 cases, hemagglutination inhibition (HI) antibodies and neutralizing antibodies in tonsillar extracts as well as in serum to influenza, parainfluenza, mumps, measles, RS and rubella viruses were titrated. The serum specimens were sampled at the same day when tonsillectomy was done.

Although HI antibodies against influenza virus A<sub>2</sub> were detected in the tonsillar extracts from 3 cases, of which 2 were children, out of 16 tested, the titers were very low with the value of 1 : 32. By analyzing the tonsillar extract on sucrose density gradient centrifugation, the antibody activity was found in 7S fraction. In addition, IgG and a little amount of IgA were demonstrated in this fraction by immunoplate method. Therefore, it is considered that these HI antibodies come from the contaminated blood, but not from tonsillar cell.

No antibody against viruses other than influenza virus A<sub>2</sub> was detected at all in the tonsillar extract, while it was clearly demonstrated in serum.

(Received for publication ; April 12, 1979)

Key words : 扁桃抽出液 (tonsillar extract)  
中和抗体 (neutralizing antibody)  
HI 抗体 (HI antibody)

I 緒 言

第一篇において、急性咽頭炎症例の扁桃組織中にみられる免疫グロブリン産生細胞の動態について検索し

た結果、明らかに免疫グロブリン産生細胞が増加していること、および扁桃で産生される免疫グロブリンが感染防禦の機転に関与していることを示唆した。しかし、扁桃で産生された特異的抗体を検出しなければ、

その機転を明確にしたとはいえない。

さきに中川<sup>1)</sup>は、扁桃抽出液中に抗インフルエンザウイルス抗体を検出し、扁桃由来のものであろうと述べているので、著者は、インフルエンザウイルスのみならずいくつかの呼吸器ウイルスについて、抗体の検出を試みた。

その結果、成人および小児いずれの扁桃抽出液からも、扁桃由来と証明できる抗体は検出できなかった。わずかに検出された抗体は、血中抗体の混入と考えられる。

扁桃抽出液中のウイルス抗体の検出については、中川の報告のみであるが、著者の検出と相反する結果となったので、若干の考察を加え報告する。

## II 材料および方法

対象：症例は、1968年4月より12月までの9ヶ月間に、国立仙台病院耳鼻科および宮城厚生協会坂総合病院において習慣性扁桃炎と診断され、扁桃摘出術を受けた27例（10～15才が7例、20～41才が20例）で、血清は、扁桃摘出術の施行日に採取したものである。

扁桃抽出液の調整：摘出した扁桃を、磷酸緩衝液（PBS）でよく洗い、鉋で細切したのち、乳鉢で十分すりつぶして、扁桃重量の2倍量の0.01M PBSを加え乳剤とした。これを、10kc/sec 10分間音波処理したのち、3,000回転、15分遠心し、その上清を使用した。

ウイルス：インフルエンザ A<sub>2</sub>/萱野/57、ムンプスウイルス（Enders）は発育鶏卵、パラインフルエンザウイルス1型（C 35）はサル腎細胞、パラインフルエンザ2型（Greer）、3型（C 243）、麻疹ウイルス（杉山）は Vero 細胞、RS ウイルス（Long）は HEp-2 細胞、風疹ウイルス（Baylor）は BHK 21 細胞で、それぞれ継代されたものである。

赤血球凝集抑制（HI）試験：インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> は、感染漿尿液をそのまま赤血球凝集素（HA）として使用したが、パラインフルエンザウイルスは、10 kc/sec 10分間音波処理した HA<sup>2)</sup> を、風疹ウイルスは、Tween 80 エーテル処理した HA<sup>3)</sup> を、それぞれ使用した。

インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> の凝集には、0.5% ニワトリ血球、パラインフルエンザウイルスには、0.5% モルモット血球、風疹ウイルスには、0.2% ガチヨウ血球を、それぞれ使用した。

反応温度は、インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> および風

疹ウイルスは 4°C、パラインフルエンザウイルスは、36°C であった。

インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> およびパラインフルエンザウイルスに対する非特異的阻止物質（インヒビター）を除去するため、RDE（receptor destroying enzyme）処理法<sup>4)</sup>を行った。RDE は、自家製コレラ菌 558 培養濾液（128 単位）を使用した。すなわち血清および扁桃抽出液に、それぞれ等量の RDE を加え、37°C 1夜放置後、2.5% チトラート食塩水で稀釈した。

風疹ウイルスの HA に対するインヒビター除去には、カオリン処理法<sup>5)</sup>を行った。カオリンは、Fisher の acid washed kaolin を使用した。血清および扁桃抽出液それぞれ 0.2ml に、0.6ml の 25% カオリンを加え、よく振盪したのち室温に20分放置し、2,000回転、20分遠心し、その上清に50% ガチヨウ血球浮遊液 0.05ml を加え、4°C 1時間吸着させたのち、2,000回転、20分遠心し、その上清を用いた。

術式は、すべて Sever<sup>6)</sup> のマイクロタイター法によった。

中和試験：血清および扁桃抽出液を、56°C 30分非燻化し、PBS で倍数稀釈（パラインフルエンザと RS は4倍稀釈）系列をつくり、その 0.2ml と約 100 TCD<sub>50</sub> のウイルス液 0.2ml とをまぜ、室温1時間放置後3本のチューブ（細胞）に、0.1ml ずつ接種し、33°C 静置培養を行った。判定は、ウイルス対照に明らかな細胞変性効果（CPE）を認めてから48時間後に、Reed-Muench<sup>7)</sup> の方法により、50% 中和抗体価を算定した。この際必ず使用ウイルス量の測定を同時に行い、0.1ml あたり 100～320 TCD<sub>50</sub> であることを確認した。なお、ムンプスウイルスおよびパラインフルエンザウイルスについては、0.5% モルモット血球<sup>8)</sup> を用いて、赤血球吸着試験を行って判定した。

シヨ糖密度勾配遠心法：遠心機は、日立 55 P-2 A、ローターは、RPS-40 を使用した。10～37% のシヨ糖密度勾配で、RDE 処理後の扁桃抽出液 0.5ml を重上したのち、4°C 35,000 回転、16時間遠心したあと、遠心管底に 26 G 1/2 針で穴をあけ、4 滴ずつ採取し、20分画にわけた。各分画にそれぞれ PBS 0.2ml を加えたのち、セルロース透析膜で、4°C、1夜 PBS 中で透析した。

## III 成績

扁桃抽出液中の HI 抗体：成人 6 例の扁桃抽出液に

ついて、インヒビター除去処理前後の HI 価を検索した (表1)。

インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> 型については、未処理の場合、256 倍から 512 倍以上の高い HI 価を示し、56°C 30分非働化しても、その価は低下しなかったが、RDE 処理により、32倍の 1 例を除き、すべて 16 倍未満となった。したがって未処理検体で示された高い HI 価は、扁桃抽出液中の非特異的インヒビターによるものと考えられる。

パラインフルエンザウイルスについては、1 型で未処理の HI 価が、32倍 4 例、128 倍 1 例認められたが、RDE 処理によりすべて 16 倍以下となった。2 型で、16倍 1 例、3 型で、32倍 1 例それぞれ検出されたが、いずれも RDE 処理により消失した。

風疹ウイルスでは、128 倍 3 例、64 倍 1 例、32 倍 2 例認められたが、カオリン処理によりいずれも消失した。

扁桃抽出液中の HI 活性は、インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> 型に対して最も高く、ついで風疹ウイルス、パラインフルエンザウイルス 1 型の順であったが、これ

らのほとんどが、RDE およびカオリン処理で除去されるものであった。

血中抗体と扁桃抽出液中の抗体：扁桃摘出当日に採取した患者血清の HI 価と比較したのが、表 2 である。

血清中の HI 価は、インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> 型の場合、全例が 128~512 倍を示したが、パラインフルエンザウイルスの場合は、抗体保有者が少なく、1 型で 16 倍 1 例、3 型で 32 倍 1 例認められたにすぎなかった。風疹ウイルスでは、5 例に 16~64 倍の HI 価を示した。

扁桃抽出液の HI 価については、すでに述べたように、インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> 型で 32 倍を示したが 1 例のみで、他はすべて 16 倍以下であった。

そこでインフルエンザウイルス A<sub>2</sub> 型について、年齢を考慮して、成人群 (20 才以上) と小児群 (15 才以下) とにわけて検索したのが表 3 である。成人、小児の別なく、それぞれ 5 例中 1 例に 16 倍の HI 抗体を検出したにすぎなかった。

扁桃抽出液中抗体の分画と解析：10 例中 2 例に低い

表 1 各種呼吸器ウイルスに対する扁桃抽出液の HI 価

症例	インフルエンザ A <sub>2</sub>			パラインフルエンザ 1		パラインフルエンザ 2		パラインフルエンザ 3		風 疹	
	未処理	熱処理	RDE 処理	未処理	RDE 処理	未処理	RDE 処理	未処理	RDE 処理	未処理	カオリン処理
1	>512	512	0	32	0	0	0	0	0	64	0
2	256	256	0	32	0	0	0	0	0	128	0
3	256	256	0	32	0	0	0	0	0	32	0
4	>512	256	0	0	0	0	0	0	0	32	0
5	256	128	32	128	0	16	0	32	0	128	0
6	256	128	0	32	0	0	0	0	0	128	0

0 : <16

表 2 扁桃抽出液および血清の HI 価

症例	インフルエンザ A <sub>2</sub>		パラインフルエンザ 1		パラインフルエンザ 2		パラインフルエンザ 3		風 疹	
	扁桃抽出液	血 清	扁桃抽出液	血 清	扁桃抽出液	血 清	扁桃抽出液	血 清	扁桃抽出液	血 清
1	0	32	0	0	0	0	0	0	0	16
2	0	32	0	0	0	0	0	0	0	32
3	0	128	0	0	0	0	0	0	0	32
4	0	32	0	16	0	0	0	0	0	16
5	32	64	0	0	0	0	0	0	0	64
6	0	64	0	0	0	0	0	32	0	0

0 : <16

扁桃組織における免疫学的応答

表 3 成人および小児扁桃抽出液中のインフルエンザ A<sub>2</sub> HI 価

群	症 例	扁桃抽出液	血 清
成人 群 (20才以上)	11	0	128
	12	16	256
	13	0	64
	14	0	128
	15	0	64
小 児 群 (15才以下)	21	0	128
	22	0	128
	23	0	128
	24	0	128
	25	16	128

0 : <16

表 4 各種呼吸器ウイルスに対する扁桃抽出液の中和抗体価

症例	麻 疹		ムンプス		パラインフル エンザ3型		R S	
	扁桃	血清	扁桃	血清	扁桃	血清	扁桃	血清
1	0	32	0	4	0	64	4	64
2	0	32	0	4	0	64	0	16
3	0	8	0	0	4	>64	4	64
4	4	32	0	0	4	64	0	16
5	0	8	0	0	0	64	0	16
6	0	0	0	4	4	>64	0	16
7	0	8	0	0	0	>64	0	16
8	0	8	0	4	0	64	4	256
9	0	8	0	4	0	64	0	16
10	0	0	0	4	0	64	0	16
11	4	64	0	4	4	>64	—	—

0 : <4

ながら、インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> 型に対する HI 活性を認めたので、それらの扁桃抽出液をシヨ糖密度勾配遠心法により分画をつくり、それぞれの免疫グロブリンを解析した。

その結果、HI 抗体活性を示す分画は、第12~13分画にあり、7S 抗体に属するものであった(図1)。また免疫プレート (Hyland Lab.) で、これらの分画中の免疫グロブリンを検索したところ、IgG および少量の IgA がふくまれていることが判った。すなわち、この分画パターンは、血清のパターンと同様であった。

扁桃抽出液中の中和抗体：前述したように、扁桃抽出液中に各種呼吸器ウイルスの HI 抗体を検出することができなかったため、この事実をさらに確認するため、中和抗体の検索を行った(表4)。

麻疹ウイルスについては、血中の中和抗体が、64倍1例、32倍3例、8倍5例、4倍未満2例であったが、抽出液中には、4倍2例のみであった。この2例の血中中和抗体価は、32倍と64倍であった。

ムンプスウイルスに対する血中の中和抗体価は、4倍7例、4倍未満4例であったが、抽出液中のそれは、いずれも4倍未満で検出できなかった。

パラインフルエンザウイルス3型に対する血中の中和抗体価は高く、すべて64倍または64倍以上であったが、抽出液中の中和抗体価は、4倍4例、4倍未満7例であった。抽出液中に検出された4例について、血中抗体価は1例を除き、64倍以上を示した。

RS ウイルスに対する血中の中和抗体価は、256倍1例、64倍2例、16倍7例であったが、抽出液中に検

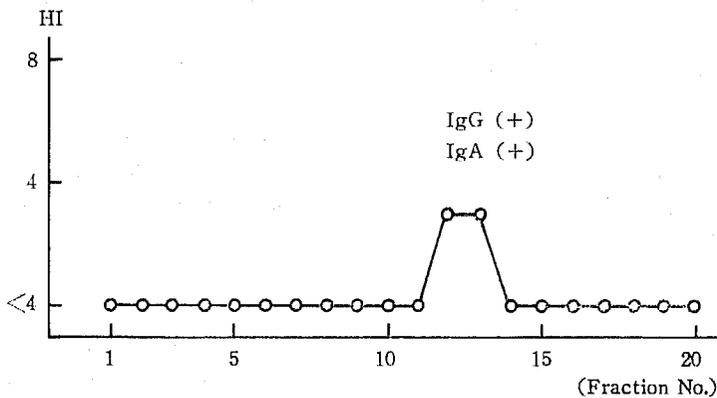


図 1 扁桃抽出液抗体の分画 (蔗糖密度勾配遠心分析)

出されたものは、4倍3例のみで、それらの血中抗体価は、64倍2例、256倍1例でいずれも高い価を示した。

したがって、抽出液中に中和抗体を検出したのは、延べ9例であったが、いずれも血中の中和抗体価は高かった。

#### IV 考 察

扁桃抽出液中の HI 活性は、インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> 型に対してきわめて高く、他の呼吸器ウイルスに対してもそれぞれ活性を示したが、それらのほとんどすべてが、RDE 処理あるいはカオリン処理により除去された。したがって、これらの HI 活性は、真の抗体によるものではなく、正常インヒビターによるものと考えられる。

しかし、RDE 処理およびカオリン処理の過程で、抗体が不活化された可能性を一応考慮して、56°C 30 分の非働化のみの扁桃抽出液を用いて、中和抗体を検索したところ、中和活性はほとんどみられず、扁桃抽出液中の高い HI 活性が抗体によるものではないことを裏付けた。

中川は、インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> 型を用いて扁桃抽出液中に高い HI 価を認め、抗体活性であると報告しているが、著者の実験成績からみて、中川の成績は、インヒビター除去が不十分であったための誤認と考えられる。

しかし、若干の例において低いながら、RDE 処理後の扁桃抽出液中に HI 活性あるいは中和活性を認めたので、この抗体が扁桃で産生されたものか、血中抗体の混入によるものか吟味しておかねばならない。

まず抗体価に関してであるが、扁桃抽出液中には、通常血中抗体の約 1% がふくまれている<sup>9)</sup> ので、著者の実験においても、血中抗体の混入は当然ありうる。

次に、扁桃抽出液中のインフルエンザウイルス A<sub>2</sub> 型に対する HI 活性をシヨ糖密度勾配遠心法で解析した結果、これらはすべて 7S 抗体であり、その大部分は IgG で、他に少量の IgA をふくんでいた。この分画パターンは、血中抗体とまったく同じであり、この点においても血中抗体の混入を否定できなかった。

したがって、第一篇で述べたように、扁桃で免疫グロブリンが産生されることは、たしかであるが、扁桃抽出液中に、扁桃由来の特異抗体を検出することは、現段階では不可能といわざるをえない。

#### V 結 語

扁桃で産生された特異抗体を検出することを目的として、習慣性扁桃炎患者の摘出扁桃から抽出液をつくり、各種呼吸器ウイルスに対する HI 抗体と中和抗体を検索して次の結果をえた。

扁桃抽出液中には、インフルエンザウイルス A<sub>2</sub> 型に対する高い HI 活性があり、風疹ウイルスやパラインフルエンザウイルス 1 型に対しては、中等度の HI 活性を示したが、RDE 処理またはカオリン処理により、その活性のほとんどが除去された。したがって、これらの活性は、扁桃抽出液中に存在する正常インヒビターによるものと考えられる。

扁桃抽出液中には、高い中和活性は認められず、若干例に 4 倍の低い抗体価を認めたにすぎなかった。

扁桃抽出液中に検出された HI 抗体は、7S 抗体であり、IgG とわずかな IgA をふくんでいた。

以上の如く、著者の実験では、扁桃抽出液中には、扁桃由来の抗体は証明されず、わずかに検出された活性は、血中抗体の混入によるものと考えられる。

国立仙台病院ウイルスセンター主任、沼崎義夫博士の助言に深謝する。

本論文の要旨は、日本扁桃研究会  
第 8 回総会 (1968. 10 東京都)  
第 9 回総会 (1969. 10 松本市)  
第 10 回総会 (1970. 10 大阪市)

において発表した。

#### 文 献

- 1) 中川 透：扁桃の免疫機能に関するウイルス学的研究。日耳鼻会報，68：1196—1207，1965
- 2) Hermodsson, S.: Effect of ultrasonic vibration on the hemagglutinating activity of some parainfluenza viruses. Nature, 188: 1214—1214, 1960
- 3) Norrby, E.: Hemagglutination by measles virus. 4. A simple procedure for production of high potency antigens for hemagglutination-inhibition test. Proc. Soc. exp. Biol., 111: 814—818, 1962
- 4) Sabin, A. B. and Buescher, E. L.: Unique physico-chemical properties of Japanese B Encephalitis virus hemagglutinin. Proc. Soc. exp. Biol., 4: 222—230, 1950

扁桃組織における免疫学的応答

- 5) Stewart, G. L., Parkman, P. D., Hopps, H. E., Douglas, R. D., Hamilton, J. P. and Meyer, H. M. : Rubella-virus hemagglutination-inhibition test. *New Engl. J. Med.*, 276 : 554-557, 1967
- 6) Sever, J. L. : Application of a microtechnique to viral serological investigations. *J. Immunol.*, 88 : 320-329, 1962
- 7) Reed, L. J. and Muench, H. : A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Amer. J. Hyg.*, 27 : 493-496, 1938
- 8) Vogel, J. and Shelkov, A. : Adsorption-hemagglutination test for influenza virus in monkey kidney tissue culture. *Science*, 126 : 358-359, 1957
- 9) 斉藤英雄, 都川郁雄, 浜島義博 : 扁桃抽出液における免疫グロブリン, *日扁桃会誌*, 10 : 87-89, 1971

(54. 4. 12 受稿)