腎移植における免疫学的モニタリング

I. リンパ球電気泳動法の基礎的検討

井 原 英 有
細 川 尚 三
鹿 子 木 基 二
兵庫医科大学泌尿器科学教室
(主任: 生駒文彦教授)
島 田 憲 次
有 馬 正 明
生 駒 文 彦

IMMUNOLOGICAL MONITORING IN RENAL TRANSPLANTATION

I. Fundamental Study on Lymphocyte Electrophoresis

Hideari Ihara, Shouzou Hosokawa, Mototugu Kanokogi, Kenji Shimada,
Masaaki Arima and Fumihiko Ikoma
Department of Urology, Hyogo College of Medicine
(Director: Prof. F. Ikoma)

A fundamental study on lymphocyte electrophoresis was performed with the purpose to apply it as an immunological monitoring in renal transplant recipients. Electrophoretic mobility of lymphocytes from healthy individuals and patients on hemodialysis or after renal transplantation was analyzed by means of a fully automated cell electrophoresis apparatus (Parmoquant). Electrophoretic mobility histograms of lymphocytes from normal individuals showed two distinct peaks. The faster peak consisted mainly of nylon-wool non-adherent cells and the slower peak consisted mainly of nylon-wool adherent cells. OKT4 and OKT8 positive cells showed almost the same electrophoretic mobility in the faster peak. In vitro incubation of lymphocytes with cyclosporine or methyl-prednisolone, or radiation showed little influence on lymphocyte electrophoretic mobility. However, a remarkable slowing of electrophoretic mobility of lymphocytes was observed after in vivo administration of methyl-prednisolone.

Although electrophoretic mobility of lymphocytes had a close correlation with T and B subpopulation, a discrepancy between them was often demonstrated. The discrepancy was related to appearance of low mobility T cells. Some pathological immune status can be detected as an alteration of electronic charge of lymphocyte. The lymphocyte electrophoretic mobility test may be useful for immunological monitoring in renal transplant recipients.

要旨: 腎移植後の免疫学的モニタリングとして応用する目的で, リンパ球電気泳動法の基礎的検討を行った。健常人リンパ球は2峰性の泳動パターンを示し, 泳動度の高いfast cellがnylon-wool non-adherent cell (T細胞)に, 泳動度の低いslow cellがnylon-wool adherent cell (B細胞)に相当した。OKT4, OKT8陽性細胞はfast cellとしてほぼ同一の泳動パターンを示した。リンパ球をin vitroでcyclosporineあるいはmethyl-prednisoloneとincubateしたり, 放射線照射を行っても電気泳動度にあまり変化はみられなかったが, methyl-prednisoloneの静脈内投与を受けた健常人のリンパ球には著明な電気泳動度の低下が認められた。リンパ球サブセットとの相関をみると, リンパ球電気泳動度はT, B細胞のsubpopulationとおおむね相関する。しかし, 腎移植患者においてT cell marker (OKT11)を持ちながら電気泳動度の低い細胞 (low mobility T cell)の出現が認められ, 電気泳動度とサブセッ

トとの間にしばしば discrepancy がみられた。免疫機構の状態によっては、同一表面マーカーを持つリンパ球でも電気泳動度に変化を示すことから、リンパ球電気泳動法がリンパ球サブセットとは別に免疫学的モニタリングの一方法となりうると考えられた。

緒 言

腎移植後の免疫学的モニタリングの方法としては、spontaneous blastogenesis, complement dependent antibody, antibody dependent complement dependent cytotoxicity, cell mediated cytotoxicity などさまざまな方法が行なわれてきた。最近では、monoclonal 抗体を用いたリンパ球サブセットの分析による知見が続々と報告されている。

このような方法とは別に、われわれは、腎移植患者の末梢リンパ球そのものを用いて、その電気泳動度を検索することによって、患者の体内でおこっている免疫学的変化を把握しようと試みた。このリンパ球電気泳動試験が免疫学的モニタリングとして有用か否かを検討する目的で、まずリンパ球電気泳動法の基礎的検討を行なった。

材料と方法

1. 材料

健康人24名、血液透析患者18名、腎移植患者65名において、のべ200回のリンパ球電気泳動およびリンパ球サブセット分析を行なった。

2. リンパ球分離

ヘパリン加末梢血を Lymphocyte separation Medium (Biotics) を用いた比重遠沈法にて分離し、Tris-NH₄Cl buffer で赤血球を溶血 (37°C, 10分間) のち、phosphate buffered saline (PBS) について RPMI1640 (Gibco, 以下、RPMI) にて計3回洗浄し、 1.5×10^6 /ml の濃度で RPMI に浮遊せしめ測定に供した。

3. T, B 細胞の分離

Nylon-wool column 法にて行なった。乾燥ナイロンウール (総研) を disposable plastic syringe (テルモ) につめ、10% fetal calf serum (以下、FCS と略す) 加 eagle minimum essential medium (以下、MEM と略す、Gibco) にて洗浄の後、同 medium に浮遊させたリンパ球をカラムに注入し、adherent cell と non-adherent cell に分離した。分離後、RPMI にて洗浄・浮遊して測定した。

4. リンパ球サブセットの測定

EDTA 加末梢血を、モノクローナル抗体、OKT 11 (末梢 pan T 細胞)、OKT4 (ヘルパ-/インデューサーT

細胞)、OKT8 (サブプレッサー/細胞障害性T細胞)、OKIa1 (Ia 陽性細胞) (以上、Ortho Pharmaceutical Corp.)、および B1 (B 細胞、Coulter) を試薬として、リンパ球サブセット分析装置 (Ortho Diagnostic Systems, ORTHO SPECTRUM III) にて分析した。

5. リンパ球電気泳動法

リンパ球の電気泳動測定は全自動細胞電気泳動装置 (Parmoquant; PQ-L, 呉羽化学工業 K.K.) により行なった。この装置および測定方法¹⁾の概略は以下のごとくである。

泳動チェンバーにリンパ球浮遊液を注入し、これに光源を暗視野照明法によって照射し、視野中に観測される10~20個の泳動する細胞の個々の位置を画像処理によって刻々認識し、コンピューターに記憶させる。一定時間に泳動する距離を測定して電気泳動度を求める。電気泳動度は羊赤血球の電気泳動度を基準にした相対的電気泳動度である。

リンパ球は 1.5×10^6 /ml の濃度で RPMI に浮遊させ、電極部電解質液には PBS を用い、泳動電流12.5 mA、泳動時間3秒、温度24°Cの条件で測定した。

6. リンパ球電気泳動度

上記の方法によって測定したリンパ球の電気泳動度 (electrophoretic mobility) は $\mu\text{m}/\text{sec}/\text{V}/\text{cm}$ で表現される。ある検体または患者の電気泳動度という場合は、100ないし200個のリンパ球の平均電気泳動度 (以下、MOB) をもって示した。また、200個 (または100個) のリンパ球のうち、電気泳動度0.95未満の細胞 (slow cell または low mobility cell) 数および0.95以上の細胞 (fast cell または high mobility cell) 数の比、すなわち、S/F 比 = slow cells/fast cells $\times 100$ も電気泳動パターンを示す指標とした。

7. OKT4, OKT8陽性細胞の分離

前述のナイロンカラム法によって分離したT細胞 (nylon-wool non-adherent cells) を OKT4または OKT8を用いた affinity chromatography technique (Affi-Gell Cell Sorting Systems, Bio-rad Laboratories) にて分離した。OKT4または OKT8を用いたカラムを通過した細胞を、各々、non-OKT4 (OKT8) または non-OKT8 (OKT4) cell として PRMI で洗浄のち測定した。

8. リンパ芽球

健康人のリンパ球を分離し、 $1.5 \times 10^6/\text{ml}$, 20% ヒト AB 血清, 37°C , 5% CO_2 の条件下で 5 日間混合培養 (two-way mixed lymphocyte culture) を行ない, RPMI で洗浄ののち測定した。また, 各々リンパ球に PHA-M を添加して同条件で 5 日間培養し, 凝集を取り除くため 0.1M methyl- α -D-mannopyranoside を含む RPMI 中で, 室温・30 分間 incubate したのち, RPMI で洗浄してその電気泳動度を求めた。

9. In vitro における免疫抑制剤の影響

a. Cyclosporine: Cyclosporine (以下, Cy と略す) を RPMI に 1,250. 2,500ng/ml の濃度に溶解し, リンパ球をこれに浮遊して 37°C , 5% CO_2 の条件下で 24 時間培養し, RPMI で 2 回洗浄ののち電気泳動度を測定した。

b. Methyl-prednisolone: Methyl-prednisolone (以下, M-Pr と略す) $5\mu\text{g}/\text{ml}$, $25\mu\text{g}/\text{ml}$, $125\mu\text{g}/\text{ml}$ を含む RPMI にリンパ球を浮遊させ 37°C , 5% CO_2 の条件下 24 時間培養し, RPMI で洗浄の後, 電気泳動度を測定した。

10. In vivo における methyl-prednisolone の影響
健康男子 (volunteer) に M-Pr 500mg を静脈内投与し, 経時的にリンパ球電気泳動度, リンパ球サブセットを測定した。

11. In vitro におけるリンパ球の radiation の影響
RPMI に浮遊させたリンパ球に 3,000rad の X 線照射を行なったのち, RPMI で洗浄し測定した。

12. 統計処理

電気泳動度 (MOB) を規定する因子を検索するために, リンパ球サブセットの percentage を変数とする重回帰分析を行なった。

結 果

1. 健康人末梢リンパ球の電気泳動パターン

健康人末梢リンパ球 200 個の MOB は $0.91 \sim 1.03$, 平均 0.96 (S.D. 0.03) $\mu\text{m}/\text{sec}/\text{V}/\text{cm}$ で, S/F 比は $18 \sim 110$, 平均 64 (S.D. 28) であった。電気泳動度 0.8 付近および 1.0 付近にピークをもつ 2 峰性のパターンを示した (図 1)。2 つの峰の泳動位置やその大きさには個人差があり, slow cell は 0.74 から 0.90 付近に分布し, fast cell は 0.96 から 1.10 付近に分布した。

図 1 Electrophoretic mobility patterns of lymphocytes from normal individuals (A-H). Histograms show normal variations.

	A	B	C	D
	MOB 0.976 S/F 50	MOB 0.974 S/F 38	MOB 0.977 S/F 59	MOB 0.968 S/F 49
OKT11 / B1	82.9 / 11.9	- / -	80.8 / 15.1	77.0 / 16.2
OKT4 / OKT8	38.2 / 40.9	- / -	41.9 / 23.4	35.8 / 35.4
OKIa1 (%)	26.1	-	12.2	29.5
	E	F	G	H
	MOB 0.945 S/F 79	MOB 0.954 S/F 94	MOB 0.968 S/F 40	MOB 0.957 S/F 82
OKT11 / B1	74.4 / 14.0	83.6 / 12.2	84.8 / 12.8	79.0 / 15.8
OKT4 / OKT8	35.5 / 33.6	55.0 / 21.8	41.8 / 33.3	22.4 / 38.7
OKIa1 (%)	18.1	14.9	19.2	20.6

2. Nylon-wool adherent, non-adherent cell の電気泳動パターン

リンパ球を nylon-wool column 法によって adherent cell (B cell), non-adherent cell (T cell) に分離すると図 2 のごとく, adherent cell は電気泳動度 0.72 付近にピークをもつ slow cell であり, non-adherent cell は MOB 1.02~1.04 付近にピークをもつ fast cell であった. なお, slow cell の電気泳動度がやや低下しているのは, 次に示す FCS の影響もわずかにはあるが, 主として, リンパ球自身の性質と考えられた (図 1 B および図 4 と同一供血者のリンパ球).

3. OKT4, OKT8 陽性細胞の電気泳動パターン

OKT4 陽性細胞, OKT8 陽性細胞は共に電気泳動度 1.00~1.06 にピークをもつ fast cell で, MOB は各々, 1.03 と 1.02 でほぼ同じであった (図 3).

4. リンパ芽球の電気泳動パターン

Two-way mixed lymphocyte culture にて得られたリンパ芽球の泳動パターンは図 4 A のごとくで, 電気

図 2 Electrophoretic mobility patterns of nylon-wool non-adherent cells (A) and nylon-wool adherent cells (B).

図 3 Electrophoretic mobility patterns of lymphocytes OKT4 (non-OKT8) or OKT8 (non-OKT4) positive cells.

泳動度は 0.7 から 0.9 にかけて分布する 1 峰性であった. プラスト化していないリンパ球の泳動度はプラスト化したものよりも大きく, 正常の泳動パターンを平坦化したパターンであった (図 4 B).

PHA-M によってプラスト化させたリンパ芽球の電気泳動度は 0.8 から 1.0 にかけて分布した (図 5).

5. In vivo における methyl-prednisolone (M-Pr) の影響

M-pr 投与 4 時間目にはリンパ球電気泳動度の低下が認められ, 48 時間には投与前のパターンに復した. 同時に測定したリンパ球サブセット分析では, MOB の変化と T, B 細胞の subpopulation の変化がほぼ関連していた (図 6).

6. リンパ球電気泳動度とリンパ球サブセットとの関係

図 4 Electrophoretic mobility patterns of MLC-activated lymphoblasts (A) and non-blast lymphocytes (B).

図 5 Electrophoretic mobility patterns of PHA-activated lymphoblasts (A) and non-blast lymphocytes (B).

図6 Electrophoretic mobility patterns of lymphocytes from a normal volunteer administered of methyl-prednisolone 500mg (i.v.). A; pre-administration, B; 4 hours, C; 24 hours, D; 48hours.

重回帰分析によって MOB は OKT11陽性細胞 (%) および B1陽性細胞 (%) を変数とした場合に最も相関係数が大きく ($r=0.71$), 他の変数, すなわち OKT4, OKT8, OKIa1 を加えることによって相関係数は小さくなった。したがって, MOB と T, B subpopulation とはおおむね相関すると考えられた。

しかし, リンパ球電気泳動パターンとリンパ球サブセットとの間に discrepancy が多々認められ, 泳動パターンがサブセットのみによって規定されなかった。すなわち, fast cell (%) と OKT11陽性細胞 (%) との関係をみると, 図7 A のごとく健康人において電気泳動上の T細胞すなわち fast cell の population よりも表面マーカーによる T細胞すなわち OKT11陽性細胞の population の方が多く, 測定法によって差異が認められた。腎移植患者においてはその差異が一層大きい(図7 B)。健康人にみられた分布をはみ出す sample は fast cell (%) に比べて不相応に OKT11陽性細胞 (%) が多いことを示している。OKT11陽性細胞 (%) と fast cell (%) の差は電気泳動度 0.95未満の『電気泳動度の低い T細胞 (low mobility T cell, 以下 LMT と略す)』を意味し, 健康人では 0~32.1% (平均 16.9%, S.D. 9.4) であった。そこで平均+2S.D. すなわち 35.7% までを正常とすると, 腎移植患者リンパ球

図7 Relationship between fast cell population and OKT 11 positive cell population in normal individuals (A) and renal transplant recipients (B).

157検体中35検体 (22%) が異常増加を示した。

ちなみに, in vivo M-Pr 静脈内投与による変化を fast cell (%) と OKT11陽性細胞 (%) との関係についてみると, 図8 のごとく M-Pr 投与 4 時間後には OKT11陽性細胞の減少と fast cell の減少がほぼ同率にみられるが, 24時間後には OKT11陽性細胞が増加しているにもかかわらず fast cell はあまり増加しておらず, この差は LMT が増加していることを示している。48時間後には前値に復した。

さらに例をあげれば図9 に示すごとく, A (35歳男

図8 Relationship between fast cell population and OKT 11 positive cell population in a normal volunteer administered of methyl-prednisolone 500mg (i.v). Figures indicate hours after drug administration.

図9 Electrophoretic mobility patterns of lymphocytes from renal transplant recipients. LMTs were 15.2% in A (35-year-old male) and 39.3% in B (32-year old female), respectively.

性、腎移植後5年5カ月)は正常の泳動パターンを示しLMTは15.2%であるが、B(32歳女性、腎移植後4年10カ月)においては、Aとほぼ同様のOKT11, B1陽性細胞のpopulationであるにもかかわらずfast cellのピークの幅が広く、電気泳動パターンには差異がみられる。この差異はBにおけるLMTの増加(39.3%)によるものである。

図10の例(37歳、腎移植後)においても、A(術後74日目)とB(83日目)との間にリンパ球サブセットの大きな変化はないにもかかわらず、AではMOB低

図10 Electrophoretic mobility patterns of lymphocytes from a renal transplant recipient. LMTs were 53.4% in A (74th postop. day) and 12.4% in B (83rd postop. day), respectively.

値、S/F比およびLMT高値(53.4%)BではMOB高値、S/F比およびLMT低値(12.4%)であり、電気泳動パターンは大きく異っている。

考 察

細胞電気泳動は1958年 Bangham ら²⁾によって原理的に信頼しうる手動式装置開発されて以来、主として細胞の癌化に伴う表面荷電の変化が研究の対象となってきた。リンパ球の電気泳動については Sabolovic ら³⁾がその subpopulation によって、電気泳動度が異なることを報告したことに始まる。ついで Plagne ら⁴⁾が癌患者の末梢リンパ球では表面荷電の大きい細胞の比率が減少していることを報告した。しかし、この頃の細胞電気泳動法は手技が繁雑であり、少数の細胞しか測定できずデータの再現性に乏しかったため、広く取り入れられて臨床応用されるにはほど遠いのが実状であった。

しかし、Kaplan, Uzgis らのグループ⁵⁾⁶⁾による laser Doppler spectrometer を用いた電気泳動測定法が導入され、さらに画像処理法による全自動電気泳動装置の開発¹⁾によって、手技は簡易となり、データの再現性は大きく変わった。また画像処理すべき被測定粒子の大きさは、一定範囲内に指定することができるので、大粒子と小粒子とが混在しても別々に測定可能である。例えば大きなリンパ芽球と通常のリンパ球とは別々に測定できる。測定結果は測定条件と共に平均泳動度、標準偏差、ヒストグラムなどがプリンターに打

ち出される。これによって従来の知見が再評価、再確認されるとともに、主として癌患者におけるリンパ球電気泳動パターンについての知見が報告されるに至った^{7)~10)}。

リンパ球の電気泳動度が単純にT細胞、B細胞のpopulationによってのみ規定されるものであるなら、リンパ球電気泳動法の臨床応用の意義は少ない。この点については、表面マーカーは同じT cellであっても電気泳動度にちがいがみられるという知見^{8)~10)}は重要である。担癌患者では泳動度の低いT cell (low mobility T cell, LMT) が出現し、これは病勢と相関するという⁹⁾¹⁰⁾。このことは表面マーカーとは別にリンパ球の電気泳動度が免疫学的モニタリングになりうることを示唆するものである。

本研究において、健康人24名、腎移植患者65名、血液透析患者18名計107名における200回のリンパ球電気泳動度測定で、MOBはT, B subpopulation とおおむね相関することを認めた。しかし、リンパ球の電気泳動度がT, B subpopulation によってのみ規定されるのではなく、それらの間に discrepancy を見ることが多々あり、これが電気泳動度の低いT cell (low mobility T cell) の出現によるものであることを認めた。このことはリンパ球電気泳動度には、リンパ球表面マーカーで規定される性状以外にも、リンパ球それ自身の性状の変化が介在していることを意味するものである。なお森、中島らのグループ⁸⁾⁹⁾はLMTをslow cell (%) からB cell (%) を減じたものとしたが、著者らはサブセット分析を基にしてOKT11 (%) からfast cell (%) を減じたものと定義した。

リンパ球の電気泳動度の変化をもたらす細胞レベルでの変化については不明な点が多く興味のもたれるところである。Lochner ら¹¹⁾によれば、Con-A とわずか5分間 incubate することによってT cell の平均電気泳動度は1.05から1.35へと29%上昇し、それはCon-A との接触によってリンパ球表面の陽荷電を持つ amino groups の数が減少するためという。かれらは抗原刺激によって細胞膜表面の capping, augmented amino acid transport, changes in cation permeability, changes in membrane fluidity, masking or unmasking of surface antigens and receptors, changes in cellular surface charge などが誘起され、細胞の荷電に変化がおこるが、Con-A の場合には positively charged amino groups の減少が原因であるとした¹¹⁾。腎移植患者のリンパ球では antigen density が

減少すると報告されているが¹²⁾、このような細胞膜表面構造の変化が電気泳動度の変化をもたらすものと考えられる。

リンパ球の電気泳動度の変化の基には、複雑な細胞膜の変化が存在すると考えられ、臨床的にはそのような変化と病態との関連を明らかにすることが重要である。その観点から、LMT の増加がIgG FcR (+) T cell および血清中の免疫抑制物質 (IS 物質) と有意な正の相関を示し、宿主の免疫能の低下を示すものとの報告^{8)~10)}はリンパ球電気泳動試験の臨床応用への道を開くものといえよう。

OKT4, OKT8陽性細胞の電気泳動パターンについての報告は未だ見られないが、いずれもT細胞に属するものであるから、fast cell であろうことは推測できる。今回、われわれは正常人においては、ほぼ同一のピークを持つ電気泳動パターンであることを示した。しかし、前に述べたごとく同一の表面マーカーを持つリンパ球であっても、その電気泳動度に変化が現われることから、病的状態でのOKT4あるいはOKT8陽性細胞の泳動パターンは今回示した正常人におけるパターンとは異なる可能性があり、今後の解明が期待される。

Cyclosporine, methyl-prednisolone といった免疫抑制剤とリンパ球をin vitro で incubate したり、あるいは radiation を行ってもリンパ球の電気泳動パターンには顕著な変化は認められなかった。一方、methyl-prednisolone の静脈内投与は高度の泳動度の変化をもたらし、このようにリンパ球はさまざまなin vivo の免疫学的変化を泳動度に反映させるものであり、リンパ球電気泳動法は表面マーカーを指標とするリンパ球サブセット分析とは別に、それ自身が有力な免疫学的モニタリング法となりうるものと思われる。腎移植患者におけるリンパ球電気泳動度測定においても、担癌患者と同様にLMTの出現を認めたが、その詳細については、次報にて報告する予定である。

ま と め

リンパ球電気泳動法を腎移植後の免疫学的モニタリングの一方法として臨床応用する目的で、その基礎的検討を行なった。全自動細胞電気泳動装置を用いて、比重遠沈法で分離したリンパ球の電気泳動度 (MOB) を測定し、次の結果を得た。

1. 健康人24名の平均電気泳動度 (MOB) は0.91~1.03, 平均0.96 (S.D. 0.03) $\mu\text{m}/\text{sec}/\text{V}/\text{cm}$ で、slow cell と fast cell の比 (S/F 比) は18~110, 平均

64 (S.D. 28) であった。

2. 健康人のリンパ球の泳動パターンは、電気泳動度 0.8前後の小さなピークと1.0前後の大きなピークをもつ2峰性であった。2つのピークの位置や大きさには微妙な個人差が見られた。

3. Nylon-wool column 法によって nylon-wool adherent cell と non-adherent cell に分離して電気泳動を行ない、前者が slow cell に、後者が fast cell に相当することを認めた。

4. 健康人のリンパ球を affinity chromatography 法によって OKT4, OKT8陽性細胞に分離し各々の電気泳動度を検討すると、両者はほぼ同一の泳動パターンを示した。

5. Mixed lymphocyte culture または PHA によってプラスト化したリンパ球の電気泳動パターンは、前者では0.84, 後者では0.96をピークとする1峰性であった。プラスト化していないリンパ球の泳動パターンは培養前と異なり、2峰性のパターンを失って平坦化していた。

6. 健康人に M-Pr 500mg を静脈内投与すると、4時間目には OKT11陽性細胞の減少、B1陽性細胞の増加によって著明なリンパ球の電気泳動度の低下が認められた。24時間目には電気泳動度の低いT細胞 (low mobility T cell, LMT) が出現し、48時間目には前値に復した。

7. リンパ球電気泳動度は T, B subpopulation とおむね相関する。しかし、両者の間に discrepancy のある場合も多く、このような症例では電気泳動度0.95以上の fast cell の比率にくらべ不相応に OKT11陽性細胞が多く、0.95未満の LMT が増加していた。健康人では LMT は 0 ~ 32.1% (平均16.9%, S.D. 9.4%) であったことから、35.7% (mean + 2S.D.) 以上を LMT 異常増加とすると、腎移植患者のリンパ球157検体中35検体 (22%) で LMT が異常増加していた。

これらのことから免疫機構の変化を反映して同一表面マーカーを持つリンパ球でも電気泳動度に変化をきたすことが判明した。したがって、リンパ球電気泳動法がリンパ球サブセット分析とは別個に、免疫学的モニタリングの一方法となり得ると考えられた。

本論文の要旨の一部は第73回日本泌尿器科学会および第21回日本移植学会総会で発表した。また本研究は昭和58年度文部省科学研究費 (一般研究 C 59570692) の助成をうけた。

稿を終るにあたり、一連の実験に技術的援助を頂いた

片山敬子氏に感謝の意を表し、また電気泳動測定に御協力いただいた呉羽化学工業 (株) 東京研究所に深謝致します。

文 献

- 1) 林 治久, 小口義春, 豊田教之, 大原 稔, 安藤隆雄, 松木幹夫, 松永謙一, 藤井雅彦, 吉沢親雄, 堀田鉄也, 柳沢正昭, 森 武生, 岩口孝雄: 全自動細胞電気泳動装置によるリンパ球電気泳動パターンの解析 (I). 第32回電気泳動学会, 44, 1982.
- 2) Bangham, A.D. and Heard, D.H.: An apparatus for microelectrophoresis of small particles. *Nature*, 182, 642—644, 1958.
- 3) Sabolovic, N. and Dumount, F.: Identification of T and B cells in mouse and man. *Lancet*, II, 927, 1972.
- 4) Plagne, R., Chollet, Ph., Guerrin, D., Chassagne, J., Bidet, J.M. and Sauvezie, B.: Electrophoretic mobility of blood lymphocytes in cancer patients. *Biomedicine*, 23, 447—451, 1975.
- 5) Kaplan, J.H. and Uzgiris, E.E.: Identification of T and B cell subpopulation in human peripheral blood: Electrophoretic man peripheral blood: Electrophoretic mobility distributions associated with surface marker characteristics. *J. Immunol.*, 117, 1732—1740, 1976.
- 6) Uzgiris, E.E., Kaplan, J.H., Cunningham, T.J., Lockwood, S.H. and Steiner, D.: Association of electrophoretic mobility with other cell surface markers of T cell subpopulations in normal individuals and cancer patients. *Europ. J. Cancer*, 15, 1275—1280, 1979.
- 7) 橋本信也, 揚塩正樹, 堀田正一, 能勢俊一, 松本尚美, 小林敏子, 阿部正和: リンパ球 subpopulation による細胞電気泳動試験の検討. *生物物理化学*, 27, 119—123, 1983.
- 8) 森 武生, 山田吉隆, 中島聡総, 岩口孝雄: 担癌における宿主免疫担当細胞の電気泳動パターンの解析. *癌と化学療法*, 10, 1342—1353, 1983.
- 9) Nakajima, T., Mori, T. and Iwaguchi, T.: Emergence of low-mobility T-lymphocytes in cancer patients and its clinical significance. *Int. J. Cancer*, 31, 681—686, 1983.
- 10) 中神義三, 箕輪龍雄, 戸塚一彦, 平岡保紀, 中島均, 松本恵一: 尿路器癌患者に対するリンパ球電気泳動パターンの解析に関する検討. *日泌尿会誌*, 74, 1727—1733, 1983.
- 11) Lochner, J.E., Seaman, G.V.F., Blume, P. and Malley, A.: Early electrochemical events in lectin-lymphocyte interaction. I. Mechanism of lectin-mediated changes in the electrophoretic mobility of lymphocytes. *Cell Biophysics*, 4, 15—24, 1982.
- 12) Guttman, R.D. and Poulsen, R.S.: FACS analysis of lymphocyte subsets after renal transplantation: Clinical correlates and evidence for reduced expression of antigen density associated with chronic immunosuppression. *Transplant. Proc.*, 15, 1962—1965, 1983.

(1985年5月27日受付)