再生不良性貧血における Natural killer 活性に関する研究

田 中 和 也

**Natural killer activity of circulating mononuclear
cells in patients with aplastic anemia**

Kazuya Tanaka

The First Dept. of Int. Med., Saitama Medical School

【Summary】

A significant decrease in natural killer (NK) activity of circulating mononuclear cells was demonstrated in 18 patients with aplastic anemia (AA). NK activity of normal control group in male showed its significant increase as compared with that in female. Whereas, no significant difference was observed between male and female patients. NK activity classified by the severity in Yamada's classification was reduced in the group of higher severity.

In review of NK activity classified by histological pictures on the bone marrow, no significant difference was observed among aplastic type, hypocellular type and normocellular type. In administration of steroid hormone in vivo to the patients with AA, no significant difference was observed on NK activity before and after the treatment. However, NK activity after treatment with hydrocortisone of peripheral mononuclear cells in vitro was significantly reduced in the pharmacologic concentration. In review of the viability after treatment with hydrocortisone by trypan blue dye exclusion test, hardly no reduction of viability was observed.

NK activity in the case removing the macrophage from the peripheral mononuclear cells showed no significant difference as compared with that before removing the macrophage.

The abnormality not only of myelocytic, erythrocytic and megakaryocytic system but also NK cell was suggested in the patients with AA.

Key words : NK activity
AA patients
Corticosteroid

【概 要】

再生不良性貧血患者の末梢血単核細胞の natural killer (NK) 活性は、男女ともに正常コントロール群に比較して有意に低下していた。正常コントロール群の NK 活性は男子が女子に比較して有意の増加を示していたが、患者男女では有意差は認められなかった。山田分類による重症度別 NK 活性は、重症群になるに従って低下を認めた。骨髓生検組織像別に NK 活性を検討すると、低形成型および無形成型と類正常型では有意差は認めなかった。再生不良性貧血患者に in vivo にて副腎皮質ホルモンを投与した場合、その投与前後の NK 活性に有意差は認めなかった。しかし、in vitro における正常者末梢血単核細胞の Hydrocortisone 処置後の NK 活性は、薬理学的濃度にて著明な低下を認めた。再不食患者および正常者リンパ球の Trypan blue dye exclusion test による Hydrocortisone 処置後の viability の検討では、ほとんどその低下は認めなかった。末梢血単核細胞からマクロファージを除去した場合の NK 活性は、除去前に比して有意差は認めなかった。再不食患者では、骨髓三血球系の異常のみならず、リンパ球系とくに NK 細胞の異常も示唆された。

I. はじめに

近年癌細胞に対し non-specific に細胞障害性を示す細胞が、ヒトや動物の末梢血やリンパ組織に存在し、immunological surveillance の重要な役割を担うとされている^{1,2)}。1975年 kiessling³⁾ らによってマウスにおけるこのような作用をもつリンパ球を natural killer cell (NK cell) と呼んでいるのに対し、Pross⁴⁾ らは正常人リンパ球がある種の tumor cell に対し cytotoxicity をもつことを示し、この働きを spontaneous lymphocyte mediated cytotoxicity (SLMC) と呼んだ。ヒト NK cell は、IgG・Fc receptor 陽性であり、T cell および B cell の表面マーカーをもたない細胞である⁵⁾とされるが、West⁶⁾ らによれば、ヒツジ赤血球に対する弱親和性をもつ細胞分画に NK 活性が存在することを報告している。今回、再生不良性貧血（以後再不食と略す）患者における NK 活性について検討し、同時に重症度および骨髓組織分類による NK 活性の比較検討を行った。また、治療によく用いられている副腎皮質ホルモンの NK 細胞に与える影響を、in vivo および in vitro にて検討した。以上、再不食患者の免疫担当細胞としての NK 細胞機能について興味ある知見を得たのでここに報告する。

II. 研究方法

1. 対 象

正常コントロールは健康男子 15 名 (20~29 歳, 平均 26 歳) および健康女子 15 名 (20~26 歳, 平均 23 歳) を用いた。表 1 に示すように再不食患者は男子 10 名 (19~74 歳, 平均 51 歳), および女子 8 名 (28~76 歳, 平均 53 歳) である。その病因としては特発性 16 名, クロラ

ムフェニコールによるもの 2 名である。血液学的検査では、赤血球数は男子 $171 \pm 46 \times 10^4/\mu\text{l}$ (Mean $\pm$ SD), 女子 $178 \pm 49 \times 10^4/\mu\text{l}$, 血色素は男子 $5.3 \pm 1.6 \text{ g/dl}$, 女子 $5.6 \pm 1.9 \text{ g/dl}$, 白血球数は男子 $1750 \pm 240/\mu\text{l}$, 女子 $2100 \pm 280/\mu\text{l}$, リンパ球数は男子 $1050 \pm 470/\mu\text{l}$, 女子 $1010 \pm 400/\mu\text{l}$, 血小板数は男子 $1.5 \pm 1.1 \times 10^4/\mu\text{l}$, 女子 $1.7 \pm 1.0 \times 10^4/\mu\text{l}$, 網状赤血球は、男子 $10.2 \pm 7.3\%$, 女子 $9.8 \pm 7.7\%$ であった。

2. NK 活性の測定方法

1) リンパ球の分離

血液リンパ球は、ヘパリン加血液より Böyum⁷⁾ の方法に準じ、Ficoll-Conray 法により分離した。血液を等量の PBS で稀釈し、Ficoll-Conray 液の上に重層し、室温で 400 G 30 分遠心し、中間層に存在する細胞を採取した。この細胞を PBS で 3 回洗浄し、10% FCS (Grand Island Biochemical Company) 加 RPMI 1640 (Flow Laboratories) 中に細胞数 $4 \times 10^6/\text{ml}$ の濃度としこれを Effector cell 浮遊液とした。これらの細胞浮遊液製作中にマクロファージ除去は行っていない。ただし、別にマクロファージの除去した場合の NK 活性も検討した。

2) Target cell の ^{51}Cr 標識

target cell としてヒト NK 細胞に感受性の高い細胞株であるヒト CML 由来 K 562 を用いた。Na₂⁵¹CrO₄ (日本アイソトープ協会) 100 μCi と K 562 1×10^6 個を RPMI 1640, 2 ml 中に浮遊させ、37°C 5% CO₂ 培養器中にて 2 時間培養し、⁵¹Cr を K 562 に取り込ませた。その後 4 回細胞を洗浄し、trypan-blue を用いて viability を測定し、生細胞として $4 \times 10^5/\text{ml}$ の濃度で 10% FCS 加 RPMI 1640 中に浮遊した。これを target cell 浮遊液とした。

表 1 Hematologic features in patients with aplastic anemia

Case	Age	Sex	Etiology	Peripheral Blood						Bone Marrow Histology
				RBC ($10^4/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	WBC ($/\mu\text{l}$)	Lymph ($/\mu\text{l}$)	PLT ($10^4/\mu\text{l}$)	Retic (%)	
1	40	♂	CP	217	6.8	2900	1510	0.8	2	Normocellular
2	19	♂	Idiopathic	221	7.7	1700	540	1.3	26	Normocellular
3	45	♂	Idiopathic	163	4.7	2100	1760	0.5	14	Aplasia
4	53	♂	Idiopathic	109	3.4	1900	870	0.3	8	Hypocellular
5	74	♂	Idiopathic	123	4.1	500	420	3.4	16	Hypocellular
6	38	♂	Idiopathic	183	5.6	1100	660	1.2	4	Aplasia
7	58	♂	Idiopathic	122	3.9	980	720	0.9	2	Aplasia
8	66	♂	Idiopathic	150	4.0	1500	1020	1.0	10	Hypocellular
9	70	♂	Idiopathic	244	7.8	2600	1460	3.2	8	Hypocellular
10	52	♂	Idiopathic	178	4.8	2200	1500	2.1	12	Normocellular
11	35	♀	Idiopathic	141	4.4	1300	780	1.4	24	Normocellular
12	76	♀	Idiopathic	272	9.2	1500	1050	0.8	2	Aplasia
13	45	♀	CP	195	6.8	2100	1400	1.3	4	Normocellular
14	58	♀	Idiopathic	220	7.7	2800	1700	1.1	18	Hypocellular
15	70	♀	Idiopathic	120	3.6	920	580	2.2	9	Hypocellular
16	47	♀	Idiopathic	160	5.4	1100	660	2.8	10	Aplasia
17	66	♀	Idiopathic	210	6.2	1500	930	3.0	8	Hypocellular
18	28	♀	Idiopathic	110	4.5	800	610	0.9	3	Aplasia

3) ^{51}Cr 放出試験

round bottomed microplate (Nunc 社 1482) を用い、各 well に RPMI 1640, 50 μl と Effector cell 浮遊液 100 μl (リンパ球 4×10^5), target cell 浮遊液 50 μl (K 562, 2×10^4) を入れ、全量 200 μl として静かにかつ十分に混和した。target cell : Effector cell = 1 : 20 とし、実験は triplicate で行った。Microplate を EM-振盪台Ⅲ型に設置し、軽く振盪させながら 37°C 5% CO_2 培養器内で 6 時間培養を行った。同時に Maximum release および Spontaneous release の測定用として、well に target cell 浮遊液 50 μl と RPMI 1640, 150 μl を入れたものを同様に培養した。6 時間培養後、well 内の培養細胞浮遊液を回収し 200 μl の RPMI 1640 を加え全量 400 μl とし、 γ -counter にて radioactivity を測定し、この値を total radioactivity とした。測定後さらに 400 G 10 分間遠心し上清 200 μl を採取しその radioactivity を測定しこの値を radioactivity of the supernatant とした。Maximum release の測定は、well から回収した培養細胞浮遊液を -20°C による凍結と融解を 4 回くり返して同様の操作を行い、radioactivity を測定した。

4) NK 活性の算出

以下の式に従って算出した。

$$\% \text{Release} = \frac{2 \times (\text{radioactivity of the supernatant})}{\text{total radioactivity}} \times 100$$

$$\% \text{Lysis} = \frac{\text{Experimental release} - \text{spontaneous release}}{\text{Maximum release} - \text{spontaneous release}} \times 100$$

NK 活性は % Lysis で示した。通常、Spontaneous release は 10% 以下であり、Maximum release は 80% 以上であった。実験は triplicate で行っているが、% Lysis の標準偏差は $\pm 5\%$ 以内であり、これらの範囲を逸脱しているものは再実験とした。これらの実験は Kiessling ら³⁾の方法に準じたものである。

3. 副腎皮質ホルモンの in vivo および in vitro における NK 活性への影響

1) in vivo

再不貧患者 6 名に対する prednisolone 投与前後の NK 活性を測定した。投与開始後少なくとも 3 週間の期間をおき測定した。活性測定時の prednisolone 投与量は、20 mg/day 4 名、30 mg/day 2 名であった。

2) in vitro

副腎皮質ホルモンとして Hydrocortisone sodium succinate (Sigma 社製) を用いた。Ficoll-Conray 法によって分離したリンパ球を、10% FCS 加 RPMI 1640 内

図1 NK activity in patients with aplastic anemia

に浮遊させ、Hydrocortisone を加え、培養液内濃度が OM, 10^{-7} M (physiologic concentration), 10^{-6} M (pharmacologic concentration) となるように調整し、 37°C 5% CO_2 培養器にて培養した。培養時間は6時間・24時間・48時間とし、培養後のおのの濃度別のリンパ球についてNK活性測定を行った。また、Hydrocortisoneのリンパ球へのViabilityに対する影響も同様に、Hydrocortisoneの濃度別および培養時間別についてもそれぞれ検討した。viabilityの測定はtrypan-blue dye exclusion testを用いて算定した。

4. マクロファージ除去によるNK活性の測定

前述のNK活性測定法ではEffector cell浮遊液作製中に、マクロファージ除去を行っていないため、マクロファージのNK活性に及ぼす影響は検討を要するところである。このため、正常者10名を用いた以下の実験を行った。Ficoll-Conray法によりリンパ球を採取後、10% FCS加RPMI 1640中に浮遊し、プラスチックシャーレ付着法⁹⁾に準じてマクロファージを除去した。マクロファージの混入したリンパ球を浮遊させたプラスチックシャーレを、 37°C 5% CO_2 培養器に90分静置し、その後静かにピペッチングを行い、上清中に存在する細胞を採取し、マクロファージ除去Effector cellとして用いた。スペリオキシダーゼ染色を施行しマクロファージ混入率を算定し、5%以下のものを実験に供した。

III. 実験成績

1. 健常者および再不貧患者のNK活性

図1に示すように、健常男子のNK活性 $44.0 \pm 9.7\%$ は健常女子 $34.3 \pm 10.1\%$ に比して有意の高値 ($p < 0.05$) を示した。再不貧患者のNK活性は男子 $11.0 \pm 8.8\%$ 、女子 $8.6 \pm 4.7\%$ とともに健常男女に比しおのおの明らかな低下を認めている ($p < 0.05$)。しかし、再不貧患者の男女の比較では有意差は認められなかった。

2. 重症度分類による再不貧患者NK活性

重症度は山田分類 t-score⁹⁾を用いて分類し、NK活性もそれぞれ検討した。図2に示すように、重症群患者6名のNK活性は $6.7 \pm 2.4\%$ 、中等度群患者8名は $10.8 \pm 3.9\%$ 、軽症群患者4名は $15.8 \pm 5.4\%$ であり、NK活性の低下は軽症群より中等症群および重症群に従って著明であった。重症群および中等症群患者のNK活性の比較では $p < 0.1$ に有意差を認めるが、中等症群および軽症群患者の比較では有意差は認められなかった。重症群および軽症群患者の比較では有意差 ($p < 0.05$) を認めた。

3. 組織学的分類による再不貧患者NK活性

再不貧患者の骨髓生検像により組織学的所見から分類し、NK活性を比較したものである。橋本らの分類¹⁰⁾のように、無形成型・低形成型・類正常型・過形成型の4種に分類した。今回は、無形成型および低形成型と類正

図 2 NK activity according to the severity of aplastic anemia

図 3 Comparison of NK activity according to histological classification of bone marrow

常型について比較検討した。NK 活性は図 3 に示すように、無形成型および低形成型 $8.8 \pm 4.3\%$ 、類正常型 $13.4 \pm 7.2\%$ であったが、両者に有意差は認められなかった。

4. In vivo における再不貧患者 NK 活性に対する Corticosteroid の影響

再不貧患者 18 名中 6 名について検討したが、図 4 に示すように、投与前の再不貧患者の NK 活性は $11.2 \pm 4.9\%$ 、投与後の患者 NK 活性は $8.4 \pm 7.2\%$ とやや低値を示しているが、有意差は認められなかった。

5. In vitro における正常ヒトリンパ球 NK 活性に対する Hydrocortisone の影響

図 5 に示すように、正常ヒトリンパ球を 6 時間 Hydrocortisone 添加にて培養を行い NK 活性を測定すると、Hydrocortisone OM 濃度では $40.3 \pm 10.9\%$ 、 $10^{-7}M$ では $36.9 \pm 8.8\%$ 、 $10^{-5}M$ では $32.4 \pm 8.4\%$ となり、OM と $10^{-7}M$ での NK 活性に有意差は認めなかった。OM と $10^{-5}M$ での NK 活性の比較では有意差 ($p < 0.05$) が認められた。同様に、24 時間培養における Hydrocortisone OM 濃度での NK 活性は $43.3 \pm 8.5\%$ 、 $10^{-7}M$ では $30.4 \pm 9.3\%$ 、 $10^{-5}M$ では $23.8 \pm 8.2\%$ となり、高濃度になるに従い低下を認めた。さらに 48 時間培養において、OM では $44.7 \pm 9.7\%$ 、 $10^{-7}M$ では

$31.2 \pm 11.4\%$, 10^{-5}M では $19.9 \pm 9.2\%$ と NK 活性の低下傾向が顕著となり, おおのこの NK 活性に有意の低下 ($p < 0.025$) が認められた。

6. In vitro における再不貧および正常ヒトリンパ球の Hydrocortisone 処理後の viability

Hydrocortisone OM 濃度における Viability の経時的变化をみると, 図 6 に示すように, 正常人リンパ球の

図 4 In vitro effect of corticosteroid on NK activity in AA

図 5 In vitro effect of hydrocortisone on NK activity

viability を Trypan blue dye exclusion test にて検討すると, 6 時間培養では $99.2 \pm 0.8\%$, 24 時間培養で $97.4 \pm 1.4\%$, 48 時間培養で $95.8 \pm 1.8\%$ であった。6 時間培養と 48 時間培養における viability の比較では, 有意差 ($p < 0.05$) を認めるものの低下の程度はきわめて少なかった。再不貧患者のリンパ球の viability は, 6 時間培養で $99.0 \pm 0.9\%$, 24 時間培養で $97.2 \pm 1.2\%$, 48 時間培養で $96.9 \pm 1.7\%$ であり, 6 時間培養と 48 時間培養との viability に有意差 ($p < 0.05$) を認めるも, 低下の程度は正常人リンパ球と同様にきわめて少なかった。同様の傾向が 10^{-7}M および 10^{-5}M の Hydrocortisone 濃度におけるリンパ球 viability について認められ, それぞれ 6 時間培養と 48 時間培養の viability に有意差 ($p < 0.05$) を認めた。全体的に再不貧患者リンパ球の viability は正常人に比して低値の傾向が認められた。

7. マクロファージの NK 活性におよぼす影響

図 7 に示すように, 正常者 10 名について検討した。マクロファージ混入リンパ球の NK 活性は $36.8 \pm 6.5\%$ であり, 除去リンパ球 NK 活性は $40.7 \pm 7.2\%$ とやや増加傾向を示したが, 両者の間に有意差は認めなかった。

図 6 In vitro sensitivity of lymphocytes to hydrocortisone

図 7 Effect of macrophage depletion on NK activity

IV. 考 案

ヒト各種疾患のNK活性について近年多くの報告をみているが^{11,12)}、今回の実験では、ヒトNK細胞に感受性の高いK562^{13,14)}を用い再生不良性貧血患者のNK活性を測定した。NK活性測定の問題点にEffector cellの条件として、性・年齢・ホルモンの状態、さらにtarget cellの条件としてK-562のviability、培養液中のFCSの有無やそのロットの違いなどがあり、これらの要因が作用するため、常に同一条件で測定することは困難である。ま

た、正常コントロールで同性・同世代でもかなり個体差を認めたが、実験ごとに既知の正常コントロールを同時に測定するように考慮した。性別および世代別のコントロールをおくべきであると考えられる。

再生不良性貧血患者群は著明なNK活性低下を示したが、これらのことから、immunological surveillanceの破綻を招き発癌の可能性が高いか否かは議論のあるところである。星野ら¹²⁾は、本症では骨髓3血球系の分化増殖の障害が認められるが、NK細胞も同様に障害を受けており、そしてNK細胞の起源がマウスと同様に骨髓にあることを

示唆していると述べている。

また、再不貧患者の重症度が高いほど NK 活性は低値を示す傾向があり、NK 活性と重症度との相関が示唆された。

骨髓組織学的分類からみた NK 活性については、無形成型および低形成型と類正常型では統計学的な有意差は認めなかったが、類正常型はやや高値であった。過形成型については統計をとるまでに至らなかったが、これも合わせて症例を重ねた検討が必要であろう。

NK 活性の測定上、薬剤とくに副腎皮質ホルモンの影響についても考慮すべきである。Parrillo¹⁵⁾ らによれば、正常人に Dexamethasone を *in vivo* にて投与すると ADCC は増加するが SLMC は低下を示すと報告している。今回の実験における再不貧患者の *in vivo* での prednisolone 投与前後の NK 活性の比較では、やや投与後の方が低値を認めたものの、統計学的な有意差は認められなかった。しかし、*in vitro* の実験では、pharmacologic concentration に達する高濃度の hydrocortisone の NK 活性に対する効果を検討すると著明な低下を認めた。このように、*in vitro* では著明な NK 活性低下を示すにもかかわらず、*in vivo* では低下を認められなかった。よって、再不貧の治療に用いる通常量の副腎皮質ホルモン投与では、*in vivo* では NK 活性に対する抑制効果はきわめて僅かであると考えたい。その原因は不明であるが、*in vivo* では、体内でのリンパ球の分布や NK 細胞活性化因子または抑制因子・インターフェロン^{16,17)}等が関与すると思われる。

再不貧成因の一部にリンパ球 (Suppressor T cell) の関与を示唆する報告^{18,19,20)}があり、自己免疫の機序が考えられている。これらの症例の治療に cyclophosphamide や抗リンパ球グロブリンの著効を呈したという報告^{21,22)}があるが、副腎皮質ホルモンの効果も期待しうる。しかし、副腎皮質ホルモンそのものの造血効果について明確な作用機序は判明していない。

Gupta²³⁾ らによれば、ヒト末血リンパ球 T_H 分画に ADCC および SLMC 活性をもつとし、Pandolfi²⁴⁾ らによれば、T cell CLL の患者の leukemic cells が Suppressor T cell の機能と cytotoxic activity をもった例を報告している。

再不貧患者において免疫学的に特徴的なリンパ球異常を報告されている例は少ない²⁵⁾。今回、再不貧患者群では末梢血リンパ球分画の異常は少なく、また、患者リンパ球を培養していくとやや NK 活性が増加する傾向を認めた。そして、Hydrocortisone を含む培養液内でリンパ球を培養しても viability はあまり低下を認めないの

に NK 活性は著減するといった点からも、NK 活性の低下は量的なものより質的なものである可能性があることが示唆された。

Galili²⁶⁾ らによれば、副腎皮質ホルモンの生理学的および薬理学的濃度ではともに正常人リンパ球の感受性はほとんど認めないとしているが、未熟な T cell に対して比較的高いと報告している。今回の実験では、正常ヒトリンパ球および再不貧患者リンパ球の Hydrocortisone に対する感受性はともに認めにくく、しかし *in vitro* にて Hydrocortisone に対する NK 活性が著減することを考えると、Hydrocortisone は NK 細胞に対して cytolytic に働くというよりも functional な障害であると思われる。

今回の実験からは corticosteroid は NK 活性に抑制的影響を与えるものであるが、図 4 に明らかなように、corticosteroid 投与前に再不貧患者の NK 活性は既に低下しているので、本来の NK 活性低下が corticosteroid によるものであるとは考えられない。したがって、*in vitro* 培養によって NK 活性の回復がみられたことは、NK 細胞活性との関係において NK 細胞を抑制する液性因子あるいは細胞因子の関与が推察されるところである。再不貧患者における NK 細胞活性低下の原因を明らかにするために、FcRp (+) 細胞の働きとそれを抑制する因子の存在について今後の研究をすすめたい。

V. まとめ

再不貧患者の NK 活性は、正常男女に比して有意の低下を認めた。患者 NK 活性は重症度を増すに従って低下傾向を認めたが、骨髓組織学的分類からみると有意差は認められなかった。副腎皮質ホルモンの NK 活性に対する影響は、*in vitro* において著明な抑制効果を認めたものにもかかわらず、*in vivo* では抑制傾向を認めるものの有意差は認められなかった。*in vitro* での副腎皮質ホルモンに対するリンパ球の感受性はほとんど認められなかった。

〈謝 辞〉

稿を終えるにあたり、御指導御校閲いただきました恩師畔柳武雄教授および斉藤昌信助教に感謝いたします。

また、細胞を提供していただきました自治医科大学狩野庄吾先生に深謝いたします。

——本論文の要旨の一部は第 9 回日本臨床免疫学会総会において発表した。

文 献

- 1) Herberman, R.B., Nunn, M.E. and Lavarin, D. H. : Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngenic and allogenic tumors. *Int. J. Cancer* 16 : 216~229, 1975.
- 2) Herberman, R.B. and Holden, H.J. : Natural cell mediated immunity. *Adv. Cancer. Res.* 27 : 305~377, 1978.
- 3) Kiessling, R., Klein, E. and Wizzell, H. : cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur. J. Immunol.* 5 : 112, 1975.
- 4) Pross, H.F., Jondal, M. : Cytotoxic lymphocytes from normal donors. *Chin. Exp. Immunol.* 21 : 226~235, 1975.
- 5) Winchester, R.J., Hoffman, T., Ferrarini, M., Ross, G.D., Kunkel, H.G. : Comparison of various tests for Fc receptors on different human lymphocyte subpopulations. *Clin. Exp. Immunol.* 37 : 126~133, 1979.
- 6) West, W.H., Cannon, G.B., Key, H.D., Bonnard, G.D., Herberman, R.B. : Natural cytotoxic reactivity of human lymphocytes against myeloid cell line characterization of effector cells. *J. Immunol.* 118 : 355~361, 1977.
- 7) Bøyum, A. : Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 21 (Suppl) 97 : 77~89, 1968.
- 8) 稲葉カヨ, 松村 繁 : マクロファージの単離法. リンパ球機能検索法, 矢田純一, 藤原道夫編集, 中外医学社, p 237~242, 1980.
- 9) 堀田知光, 山田英雄 : 再生不良性貧血の重症度と予後. *臨床血液* 22 : 285~290, 1981.
- 10) 橋本美智雄 : 骨髄の病理. *九州血液同好会誌* 9 : 386~474, 1959.
- 11) 中山健太郎, 中川俊郎, 熊谷健伸, 月本一郎 : 再生不良性貧血患者リンパ球のキラー活性. 特発性造血障害調査研究班昭和53年度研究業績報告書, p. 156~158.
- 12) 星野 孝, 八木田正人, 高橋隆幸, 岡田 弘 : 再生不良性貧血患者末梢血リンパ球のNK活性とその意義. 特発性造血障害調査研究班昭和55年度研究業績報告書, 143~148.
- 13) Hoffman, T. : Natural Killer cell function in systemic lupus erythmatosis. *Arth. Rheumat.* 23 : 30~35, 1980.
- 14) Jondal, M. & Targan, S. : Spontaneous and lectin-dependent cellular cytotoxicity by lymphocyte subpopulations against cell lines susceptible or resistant to spontaneous cytotoxicity. *Clin. Exp. Immunol.* 33 : 121, 1978.
- 15) Parillo, J.E. & Fauci, A.S. : Comparison of the effector cells in human spontaneous cellular cytotoxicity and antibody dependent cellular cytotoxicity : Differential sensitivity of effector cells to in vivo and in vitro corticosteroids. *Scand. J. Immunol.* 8 : 99~107, 1978.
- 16) Welsh, R.M., Karre, K. Kunkel, L.A. and Kiessling, R.W. : Interferon-mediated production of normal and tumor target cells against lysis by mouse natural killer cells. *J. Immunol.* 126, 219~225, 1981.
- 17) Einhorn, S. Blomgren, H. and Strander, H. : Interferon and spontaneous cytotoxicity in man. *Acta, Med. Scand.* 204 : 477~483, 1978.
- 18) Cline, M.J. and Golde, D.W. : Immune suppression of hemopoiesis. *Amer. J. Med.*, 64, 301, 1978.
- 19) Nathan, D.G., Chess, L., Hillman, D.E. : Human erythroid burst forming unit (BFU-E) : T cell requirement for proliferation in vitro. *J. Exp. Med.* 147 : 324, 1978.
- 20) Ascensao, J., Kagen, W., Moore, M., Pakwa, P., Hansen, J. & Good, R.A. : Aplastic anemia evidence for an immunological mechanism. *Lancet*, i, 669, 1976.
- 21) Baren, D.T., Griner, P.F. and Klemperer, M.A. : Recovery from aplastic anemia after treatment with cyclophosphamide. *N. Engl. J. Med.* 295 : 1522~1523, 1976.
- 22) Gluckman, E., Devergie, A., Faille, A., Barrett, A.J., Bonneau, M., Boiron, M. and Bernard, J. : Treatment of severe aplastic anemia with anti-lymphocyte globulin and androgens. *Exp. He-*

- mat. 6 : 679~687, 1978.
- 23) Gupta, S., Fernandes, G., Nair, M., and good, R.A. : Spontaneous and antibody-dependent cell mediated cytotoxicity by human T cell populations. *J. Immunol.* 75, 5137~5141, 1978.
- 24) Pandolfi, F., Strong, D.M., Sleese, R.B., Smith, M.L. Ortaldo, J.R., Herberman, R.B. : Characterization of a suppressor T cell chronic lymphocytic leukemia with ADCC but not NK activity. *Blood* 56 : 653~660, 1980.
- 25) Elfenbein, G.J., Kallman, C.H., Tutschka, P.J., Adkinson, N.F., Braine, H.G., Humphrey, R.L, and Santos, G.W. : The immune system in 40 aplastic anemia patients receiving conventional therapy. *Blood*, 53 : 652~664, 1980.
- 26) Galili, U., Prokocimer, M., and Izak, G. : The in vitro sensitivity of leukemic and normal lymphocytes to hydrocortisone induced cytolysis. *Blood* 56 : 1077~1081, 1980.
-