結核性胸膜炎におけるモノクローナル抗体を
用いたpurified protein derivative (PPD) 特異的
T細胞活性化機構の解析

信州大学医学部第一内科

大久保喜雄◇ 和田茂比古 北沢 邦彦 草間 昌三

ANALYSIS OF MACHANISM OF PPD-SPECIFIC T CELL ACTIVATION
BY USING MONOCLONAL ANTIBODIES IN
TUBERCULOUS PLEURISY PATIENTS

Yoshio OKUBO, MD, Shigehiko WADA, MD, Kunihiro KITAZAWA, MD
and Shozo KUSAMA, MD

The First Department of Internal Medicine, Shinshu University School of Medicine

概要 Purified protein derivative (PPD) 特異的増殖細胞がツベルクリン反応陽性の健常者、および結核性胸膜炎患者の末梢血さらには胸水中にも存在する。PPD特異的増殖細胞の膜抗原の解析をpan T細胞に対する抗Leu 1, suppressor/cytotoxicity T細胞に対する抗Leu 2aおよびhelper/inducer T細胞に対する抗Leu 3a各モノクローナル抗体(mAb)を用いて解析した。PPD特異的増殖反応はLeu 1⁺, Leu 2a⁻, Leu 3a⁺およびLeu 1⁺, Leu 2a⁻, Leu 3a⁻の2種類の細胞によつて惹起される。PPD特異的T細胞増殖反応におけるT細胞膜抗原の免疫生物学的機能を検討した。結核性胸膜炎および健常者末梢血単核球のPPD特異的T細胞増殖反応は、抗Leu 1および抗Leu 3a mAbによつて抑制された。しかしながら、結核性胸水単核球のPPD特異的T細胞増殖反応は抗Leu 3a mAbのみにより抑制され、抗Leu 1 mAbによつては抑制されなかつた。これらの結果より、PPD特異的T細胞活性化のひとつのモデルを考案した。すなわち、T細胞膜抗原であるLeu 1がfirst triggering分子として、ついでLeu 3aがsecond triggering分子としてPPD特異的T細胞活性化に働いていることを示した。

緒 言

最近の免疫学の進歩は著しく、各種免疫担当細胞の膜抗原に対するモノクローナル抗体(mAb)が得られるようになり^{1)~5)}、免疫応答機構の解析がこれらmAbsを用いることにより可能となつた⁶⁾⁷⁾。

一方以前より結核性胸膜炎の胸水中には、多量のリンパ球の存在が臨床的に認められており、さらに結核性胸膜炎の末梢血、胸水中にはpurified protein derivative (PPD) に特異的に増殖する細胞の存在が報告されている⁸⁾。そこで今回結核性

胸膜炎の末梢血、胸水および健常者末梢血を用いて、PPD特異的増殖細胞の膜抗原の解析をT細胞およびT細胞サブセット(suppressor/cytotoxicity T細胞およびhelper/inducer T細胞)に対するmAbs(おのおの抗Leu 1, 抗Leu 2a, 抗Leu 3a)を用いて解析し、さらにPPD特異的T細胞活性化機構につき検討を加えた。その結果、PPD特異的増殖反応は2種類のT細胞すなわちLeu 1⁺, Leu 2a⁻, Leu 3a⁺およびLeu 1⁺, Leu 2a⁻, Leu 3a⁻細胞により惹起されることがわかつた。結核性胸膜炎および健常者末梢血単核球のPPD特異的T細胞増殖反応は抗Leu 1および抗Leu 3a mAbにより抑制を受け、Leu 1およびLeu 3a抗原がこの反

[昭和58年11月21日受稿]

応において機能分子として働いていることが示された。一方結核性胸水単核球のPPD特異的T細胞増殖反応は、抗Leu 3a mAbでのみ抑制効果を認め、胸水単核球のPPD特異的T細胞活性化にはLeu 3a抗原のみが機能分子として働き、結核性胸膜炎および健常者末梢血と結核性胸水ではT細胞活性化機構が異なることが示された。以上の結果から、PPD特異的T細胞活性化機構のひとつのモデルを考案した。

対象および方法

対象は結核性胸膜炎3例(ツベルクリン反応(ツ反)陽性2例, ツ反陰性1例, 全て結核菌陽性)およびツ反陽性健常者6名である。方法はヘパリン添加結核性胸膜炎の末梢血, 胸水および健常者末梢血をRPMI 1640 (GIBCO, NY)により2~3倍に希釈後, Lymphoprep (Nyegaard Co, Oslo)に重層し, 400G, 30分間遠心後単核球層を採取し, RPMI 1640でさらに3回洗浄した。その後streptomycin (100 μ g/ml), penicillin (100U/ml), L-glutamine (2mM) と10%非働化fetal calf serum (FCS) (GIBCO, NY)とRPMI 1640を加えたcomplete RPMI 1640 (C-RPMI 1640)中に単核球を浮遊させた。

モノクローナル抗体： 各種mAbsはBecton Dickinson (Sunney Vale, CA)より購入した。抗Leu 1, 抗Leu 2aおよび抗Leu 3a mAbはそれぞれpan T, suppressor/cytotoxicity Tおよびhelper/inducer T細胞に対する抗体である¹²⁾。各種mAbはNaN₃除去のため0.005Mのphosphate buffered saline (PBS)により透析して使用した。

補体依存性細胞障害： 単核球 2×10^6 (1ml)を0.4~2 μ gの抗Leu 1, 抗Leu 2aおよび抗Leu 3a mAbおよび抗体無添加の4群を水中で30分間放置した。その後細胞をPRMI 1640で1回洗浄後500倍に希釈したウサギ抗マウス免疫グロブリン(100 μ l)と水中でさらに30分間反応させ、その後2回洗浄した。これらの処置をした細胞にウサギ補体(1:2~1:4希釈)を加え、37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂存在下で1時間培養した。0.1%のNaN₃はこの反応系全てに添加した。

抗原特異的増殖反応： 各種mAbと補体および補体のみで処理した細胞浮遊液(100 μ l)をPPD(最終濃度12.5 μ g/ml)添加群と非添加群に分け、microtissue culture plate (Falcon #3040, Oxnard, CA)に分注した。最終容量は200 μ lであり、細胞は37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂, 95% air存在下で5日間培養した。培養終了20時間前に0.5 μ Ciの³H-TdR (New England Nuclear, MD)を添加した。³H-TdRの取り込みはscintillation counter (Packard Instrument CO, Downers Grove, ILL)により測定した。培養はtriplicateで行ない結果はcpm (mean) $\pm$ SD (standard deviation) で表わした。

モノクローナル抗体によるPPD特異的増殖反応の抑制効果： NaN₃を透析除去したmAbを各濃度に調整してPPD特異的T細胞増殖反応系にそれぞれ加えた。一方mAbを経時的に添加して、PPD特異的T細胞増殖反応系への抑制効果を検討した。抑制効果は次式により表わした。抑制効果(%) = $[1 - \text{mAb添加によるPPD特異的T細胞増殖反応} (\Delta \text{cpm}) / \text{mAb非添加におけるPPD特異的T細胞増殖反応} (\Delta \text{cpm})] \times 100$

結 果

結核性胸膜炎の胸水単核球のPPD特異的増殖反応はTable 1に示すように、末梢血のその反応と比較して常に高値を示し、さらには末梢血単核球のPPD特異的増殖反応とツ反は強い相関を示した。しかし、ツ反陰性の結核性胸水単核球のPPD特異的増殖反応は、末梢血単核球のPPD特異的増殖反応が低値を示すにもかかわらず著しく高値を示した。ツ反陽性健常者末梢血単核球はPPDに対して良好な増殖反応を示した。つぎにこれらPPD特異的増殖細胞の膜抗原の解析をT細胞およびT細胞サブセットに対するmAbsを用いて行なった。Table 2には結核性胸膜炎および健常者を1例ずつ示した。PPD特異的増殖反応は抗Leu 1 mAbと補体処理で完全に消失し、抗Leu 3a mAbと補体処理により、PPD特異的増殖反応の部分的消失がみられた。しかし抗Leu 2a mAbと補体処理ではその反応は全く抑制を受けなかつた。なお、他の結核性胸膜炎および健常者における検

Table 1. PPD-specific proliferative responses in peripheral blood and pleural effusion from tuberculous pleurisy patients and healthy controls.

T.R. a)		Peripheral blood ^{b)}		Pleural effusion ^{b)}	
		cpm±SD	Δcpm ^{c)}	cpm±SD	Δcpm
Tuberculous Pleurisy patients	1(-) Medium	250± 70		3,600± 380	
	PPD	590± 170	340	77,610±2,760	74,010
	2(+) Medium	4,100± 650		7,970± 620	
	PPD	17,500±1,270	13,400	40,130±3,780	32,160
	3(+) Medium	1,690± 90		17,390±1,190	
	PPD	28,160±1,880	26,470	81,560±1,720	64,170
Healthy controls	1(+) Medium	4,330± 570			
	PPD	30,980± 330	26,650	N.D.	
	2(+) Medium	7,510± 960			
	PPD	25,740±2,040	18,230	N.D.	
	3(+) Medium	6,020± 680			
	PPD	31,020±1,630	25,000	N.D.	
	4(+) Medium	10,430± 750			
	PPD	36,520±2,720	26,090	N.D.	
	5(+) Medium	3,830± 850			
	PPD	78,570±5,930	74,740	N.D.	
	6(+) Medium	12,750± 250			
	PPD	59,570±1,510	46,820	N.D.	

a) T.R. : Tuberculin reaction

b) Mononuclear cells were cultured at 37°C, 5% CO₂, 95% air in a humid atmosphere with or without PPD for 5 days. Results are expressed as mean cpm±SD.c) Δcpm : PPD-stimulated response(cpm)-medium alone response(cpm).
N.D. not done.

Table 2. Analysis of surface antigens of PPD-specific proliferative cells by using monoclonal antibodies.

Treatment		Peripheral blood		Pleural effusion	
		cpm±SD	Δcpm	cpm±SD	Δcpm
Tuberculous pleurisy	(1) C alone				
	Medium	1,620± 120		1,210± 490	
	PPD	11,760±1,160	10,140	41,180±2,430	39,970
	(2) Anti-Leu 1 + C				
	Medium	1,010± 180		360± 490	
	PPD	1,330± 210	320	900± 370	540
	(3) Anti-Leu 2a + C				
	Medium	1,110± 420		320± 120	
Healthy control	PPD	10,630± 450	9,520	41,180±5,400	40,860
	(4) Anti-Leu 3a + C				
	Medium	850± 350		580± 340	
	PPD	4,790± 280	3,940	20,320±2,070	19,740
	(1) C alone				
	Medium	490± 90		N.D.	
	PPD	17,920± 740	17,430		
	(2) Anti-Leu 1 + C				
	Medium	260± 20		N.D.	
	PPD	230± 30	<0		
	(3) Anti-Leu 2a + C				
	Medium	730± 200		N.D.	
	PPD	20,140±1,350	19,410		
	(4) Anti-Leu 3a + C				
	Medium	520± 100		N.D.	
	PPD	11,440±1,930	10,920		

The mononuclear cells from peripheral blood and pleural effusion were treated with (1) complement(C) alone, (2) anti-Leu 1 plus C, (3) anti-Leu 2a plus C, (4) anti-Leu 3a plus C. After each treatment, the cells were incubated with or without PPD for 5 days. Results are expressed as mean cpm±SD.

Δcpm : See foot note in Table 1.

討でも同様な結果が得られた。これらの結果は、PPD特異的増殖反応はLeu 1⁺, Leu 2a⁻, Leu 3a⁺とLeu 1⁺, Leu 2a⁻, Leu 3a⁻の2種類の細胞により惹起されることを示す。つぎにT細胞およびT細胞サブセットに対するmAbsを用いて、T細胞膜上分子すなわちLeu 1, Leu 2aおよびLeu 3aの免疫生物学的活性の検討のために、各濃度のmAbをPPD特異的T細胞増殖反応系に添加した。Fig 1に示すように、健常者 (case 6) 末梢血 (単核球) のPPD特異的T細胞増殖反応の抑制は抗Leu 1, 抗Leu 3a mAbとも抗体量が $2 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ のとき最大限の効果を示した。しかし抗Leu 2a mAb添加によるPPD特異的T細胞増殖反応は、 $2 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ の抗体量では有意な抑制および増幅作用は認められなかった。これらの結果より、PPD特異的T細胞増殖反応の抗Leu 1, 抗Leu 2aおよび抗Leu 3a mAbsによる抑制実験は以後それぞれ $2 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ の抗体量で使用した。つぎに結核性胸膜炎の末梢血、胸水および健常者末梢血単核球のPPD特異的T細胞増殖反応における抗Leu 1, 抗Leu 2aおよび抗Leu 3a mAbsの抑制効果を検討した。Table

3および4に示すように、結核性胸膜炎および健常者末梢血の単核球のPPD特異的T細胞増殖反応は抗Leu 1および抗Leu 3a mAb添加により明確な抑制が認められた。しかし結核性胸水単核球のPPD特異的T細胞増殖反応は抗Leu 3a mAb添加により明確な抑制が認められるにもかかわらず、抗Leu 1 mAb添加による抑制は全く認められなかった。このことは末梢血と胸水ではPPD特異的T細胞活性化機構が異なることを示している。抗Leu 2a mAb添加によるPPD特異的T細胞増殖反応は、結核性および健常者末梢血ばかりでなく、結核性胸水においても全く抑制されなかったが、結核性胸膜炎 (症例2) の胸水由来の単核球のPPD特異的T細胞増殖反応のみが、著しく増強された。つぎに各mAbを経時的に末梢血単核球のPPD特異的T細胞増殖反応系に添加して、抗Leu 1, 抗Leu 2aおよび抗Leu 3a mAbの抑制効果を検討した。Fig 2に示すように、抗Leu 1, 抗Leu 3a mAbの培養系への添加はそれぞれ培養開始72, 12時間以内では明確な抑制を示したが、抗体添加時が培養開始96, 24時間以上では、全く抑制を認め

Fig 1. Dose response of monoclonal antibodies for blocking effect on PPD-specific proliferative response. Mononuclear cells (2×10^5) were cultured with various dose of monoclonal antibodies or without monoclonal antibody in PPD-specific proliferative assay culture.

Δ cpm: PPD-stimulated response (cpm) - medium alone response (cpm)

Fig 2. Time course of the blocking effect by monoclonal antibodies on PPD-specific proliferative response. Monoclonal antibodies (each $2 \times 10^{-1} \mu\text{g}$) were added at various time in PPD-specific proliferative assay culture.

Δ cpm: See foot legend in Fig 1.

Table 3. Blocking effects of monoclonal antibodies on PPD-specific proliferative responses of peripheral blood and pleural effusion mononuclear cells from tuberculous pleurisy patients^{a)}

	No antibody		Anti-Leu 1		% of blocking ^{c)}		Anti-Leu 2a		% of blocking		Anti-Leu 3a		% of blocking
	cpm±SD	Δcpm b)	cpm±SD	Δcpm	Δcpm	Δcpm	cpm±SD	Δcpm	Δcpm	cpm±SD	cpm±SD	Δcpm	
PBL ^{d)}													
Case 1													
Medium	990± 660		580± 210				1,280± 500			290± 120			
PPD	2,270±1,660	1,280	670± 0	90	93		2,450± 270	1,170	9	710± 230		420	67
Case 2													
Medium	4,100± 650		2,430± 630				3,480± 180			720± 60			
PPD	17,500±1,270	13,400	6,800±1,850	4,370	67		18,180±1,400	14,700	-10	8,170± 70		7,450	44
Case 3													
Medium	8,020± 870		6,640±2,170				5,290±1,040			1,160± 120			
PPD	50,150±1,940	42,130	20,260± 670	13,620	68		49,050±3,120	43,760	-4	13,890±1,810		12,730	70
PLE ^{e)}													
Case 1													
Medium	12,910±2,580		2,830± 530				7,870± 340			2,520± 440			
PPD	118,960±4,530	106,050	100,190±3,710	97,360	8		126,670±7,540	118,800	-12	49,550±4,870		47,030	56
Case 2													
Medium	7,970± 620		4,060± 200				4,710± 470			4,980± 530			
PPD	40,130±3,780	32,160	37,320± 40	33,260	-3		55,240±1,330	50,530	-57	27,800± 820		22,820	29
Case 3													
Medium	3,600± 380		1,160± 210				2,630± 510			5,180±1,070			
PPD	77,610±2,760	74,010	73,180±1,380	72,020	3		79,130± 480	76,500	-3	37,670±8,570		32,490	56

a): The mononuclear cells from peripheral blood and pleural effusion were cultured with anti-Leu 1, anti-Leu 2a or anti-Leu 3a (each 2x10⁻¹ μg) in PPD-specific proliferative assay culture.

b): See footnote in Table 1.

c): % of blocking = $\frac{(1 - \text{PPD-specific proliferative response with antibody } (\Delta\text{cpm}))}{\text{PPD-specific proliferative response without antibody } (\Delta\text{cpm})} \times 100$.

d): Peripheral blood.

e): Pleural effusion.

Table 4. Blocking effects of monoclonal antibodies on PPD-specific proliferative responses of peripheral blood mononuclear cells from controls^{a)}

	No antibody cpm±SD	Anti-Leu 1 Δcpm b)	Anti-Leu 1 cpm±SD	% of blocking C)	Anti-Leu 2a cpm±SD	Anti-Leu 2a Δcpm	% of blocking	Anti-Leu 3a cpm±SD	Anti-Leu 3a Δcpm	% of blocking
Case 1 Medium PPD	6,180±590 14,440±550	8,260	1,400±340 3,080±140	80	1,480±20 10,100±670	8,620	-4	810±50 4,460±980	3,650	56
Case 2 Medium PPD	12,150±1,370 57,680±6,550	45,530	5,200±360 27,360±2,770	51	8,290±950 53,990±7,840	45,700	0	1,490±460 22,250±1,880	20,760	54
Case 3 Medium PPD	6,930±1,130 48,230±930	41,300	2,630±420 28,900±3,950	36	2,420±330 45,210±3,040	42,790	-4	830±100 30,760±1,620	29,930	28
Case 4 Medium PPD	11,420±870 64,830±3,040	53,410	6,490±3,380 40,110±3,550	37	6,940±980 75,440±150	68,500	-28	1,460±680 31,280±2,010	29,820	44
Case 5 Medium PPD	22,030±5,210 84,570±4,670	62,540	3,370±1,030 35,070±50	49	2,600±110 62,810±1,250	60,210	4	1,030±190 40,470±3,070	39,440	37
Case 6 Medium PPD	5,250±690 16,800±2,680	11,550	2,820±160 6,490±260	68	1,620±20 12,840±620	11,220	3	1,250±620 7,140±280	5,890	49

a): The mononuclear cells from peripheral blood were cultured with anti-Leu 1, anti-Leu 2a or anti-Leu 3a (each 2×10^{-1} μg) in PPD-specific proliferative assay culture.

b): See footnote in Table 1.

c): See footnote in Table 3.

なかつた。抗Leu 2a mAbの培養系への添加は、培養開始時より有意な抑制も増幅作用も認めなかつた。このことは、PPD特異的T細胞増殖反応系における抗Leu 1および抗Leu 3a mAb添加による抑制は非特異的なものでないことを示し、さらにはPPD特異的T細胞活性化には、Leu 3a分子は培養早期に、Leu 1分子はLeu 3a分子よりもさらに長期にわたりこの反応系に関与していることを示す。

考 案

基礎免疫学の著しい発展により、呼吸器疾患を始め、各種疾患の発症機転や病態の解析が免疫学的手段を利用することにより可能になりつつある。さらに種々の細胞に対するモノクローナル抗体を用いた診断、および治療への可能性も開かれつつある。免疫学的手段の臨床応用としての抗原特異的増殖反応は、結核性胸膜炎⁹⁾および宮崎肺吸虫症¹⁰⁾においてわれわれは既に報告した。さらにツ反とPPD特異的T細胞増殖反応とは強く相関することも、以前の報告と同様であつた⁹⁾。結核性胸膜炎の末梢血、胸水および健常者末梢血単核球のPPD特異的増殖反応における細胞表面抗原の解析では、PPD特異的増殖反応はLeu 1⁺, Leu 2a⁻, Leu 3a⁺とLeu 1⁺, Leu 2a⁻, Leu 3a⁻の2種類のT細胞によつて惹起されていることが示され、PPD特異的T細胞増殖反応は抗Leu 2a mAbと補体処理によつては全く影響を受けず、この反応系には抑制性T細胞は関与していないことが明らかになつた。つぎにT細胞膜抗原分子 (Leu 1, Leu 2a およびLeu 3a) のPPD特異的T細胞増殖反応における、免疫生物学的機能につき検討した。結核性胸膜炎および健常者末梢血単核球のPPD特異的T細胞増殖反応は、抗Leu 1および抗Leu 3a mAb (それぞれ $2 \times 10^{-1} \mu\text{g}$) により明らかな抑制を認め、抗Leu 2a mAb ($2 \times 10^{-1} \mu\text{g}$) によつては全く抑制されなかつた。しかしFig 1に示すように、健常者例 (case 6) において抗Leu 2a mAbが $1 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ 以下では軽度の増幅作用を認めたが、この作用は抗Leu 2a mAbそのものによるものではないと考えられる。その理由としては、もし抗Leu 2a

mAbが増幅作用を有するならば、 $1 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ よりさらに高濃度の $2 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ ではより強い増幅作用が認められると思われるが、実際 $2 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ の濃度では増幅作用をまったく認めなかつたからである。興味のあることは、結核性胸水単核球のPPD特異的T細胞増殖反応は抗Leu 3a mAbのみにより抑制され、抗Leu 1および抗Leu 2a mAb添加によつては全く抑制されなかつた。特に結核性胸膜炎 (症例2) の胸水では、抗Leu 2a mAb添加により、PPD特異的T細胞増殖反応は増幅された。この原因は不明であるが、健常者の末梢血および他の結核性胸膜炎 (症例1および3) の末梢血、胸水単核球のPPD特異的T細胞増殖反応において、抗Leu 2a mAb添加により著しい増幅は認められず、この増幅反応は抗Leu 2a mAbそのものによる増幅効果ではないと思われる。

最近T細胞膜抗原に対するmAbが、さまざまな免疫生物学的機能を有することが報告されている。すなわちT₄ (helper/inducer) 細胞とマクロファージ存在下のB細胞の抗体産生細胞への分化はOKT₄ (抗Leu 3a) mAbにより抑制され、その効果は抗体の濃度依存性であり、この反応においては、T₄ (Leu 3) 分子がclass IIに向けられたT細胞のrestricting elementであろうと推測されている¹¹⁾。さらにautologous non T細胞や, allogeneic non T細胞によるOKT₄⁺ (helper/inducer) 細胞の増殖反応が、T₄ (Leu 3) に特異的な抗体 (OKT₄) により抑制を受けることが示され、この反応においてもT₄ 分子がclass II抗原に対するT細胞のrestricting elementであろうと考えられている¹²⁾¹³⁾。一方OKT₈ (抗Leu 2a) mAbは、class Iにより規定された細胞障害性Tリンパ球の機能を抑制し、同時にT₈ 分子はclass I抗原に向けられたrestricting elementであろうと考えられている¹¹⁾¹⁴⁾。別のT細胞膜抗原に対するmAbであるOKT₃ (抗Leu 4) は、resting T細胞へのmitogenicな機能¹⁵⁾、mixed lymphocyte culture (MLC)、抗体産生あるいは細胞障害性Tリンパ球のeffector機能や細胞障害性Tリンパ球の発現の抑制など種々の機能を有することが報告されてい

る^{16)~18)}。最近、今回の実験で使用した抗Leu 1 (OKT₁) mAbによるB細胞分化促進が報告されている¹⁹⁾。このようにT細胞サブセット特異抗原は、そのT細胞サブセットのもつ機能分子そのものである可能性が示されている。

PPD特異的T細胞増殖反応系における抗Leu 1, 抗Leu 3a mAb添加による経時的な抑制効果は、それぞれ96, 24時間以後では認められなくなり、これらの結果より抗Leu 1, 抗Leu 3a mAbによる抑制は非特異的なものではないと考えられる。さらに末梢血のPPD特異的T細胞増殖反応においては、抗Leu 2aおよび抗Leu 3a mAbは同一抗体量であるにもかかわらず明確な抑制効果の相異が認められ、しかも抗Leu 2aと抗Leu 3a mAbは同一免疫グロブリンisotype (IgG₁) であることから、抗Leu 3a mAbによるこの反応の抑制はantibody dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC)によるものではないと思われる。われわれは既にmitogen (phytohemagglutinin-Pおよびconcanavalin A)によるT細胞増殖反応は、抗Leu 1, 抗Leu 2aおよび抗Leu 3a mAbs (それぞれ $2 \times 10^{-1} \mu\text{g}$) 添加によつて抑制を受けないことを今回データを示さないが認めており、これらの結果からもPPD特異的T細胞増殖反応における抗Leu 1, 抗Leu 3a mAbsによる抑制は非特異的なものではないことを示していると思われる。

一方PPD特異的T細胞活性化にはHLA-DR [mouse Ia (I-E)] 陽性のantigen presenting cells (APC)が必須であるが、今回の実験結果ならびに以前の報告²⁰⁾より、PPD特異的T細胞活性化のモデルをFig 3に図示した。すなわちそれは、PPDに対して特異的増殖反応を惹起するT細胞は、抗原 (PPD) とclass II (HLA-DR) 抗原陽性のAPCにより活性化し、この際T細胞膜上のLeu 1がfirst triggering分子として、ついでLeu 3aがsecond triggering分子としてこのPPD特異的T細胞増殖反応に関与しており、これらLeu 1およびLeu 3aが機能分子として働いていることを示す。しかしながらLeu 1, Leu 3aがT細胞相互間に作用する分子であるかあるいはT細胞の分化マーカーであ

Fig 3. A model of triggering mechanism of PPD-specific response.

Leu 1 on T cells is the first triggering and Leu 3a is the second triggering molecule for PPD-specific T cell activation.

APC: Antigen presenting cells, $\triangle$: Determinant of Leu 1, $\square$: Determinant of Leu 3a, $\bigcirc$: Undefined determinant, $\blacktriangle$: Leu 1 trigger molecule, $\blacklozenge$: Leu 3a triggering molecule

るかについては現在不明である。

結 論

結核性胸膜炎、健常者末梢血および結核性胸水を利用して、PPD特異的増殖細胞の膜抗原の解析を抗Leu 1, 抗Leu 2aおよび抗Leu 3a mAbを用いて行なつた。PPD特異的増殖反応はLeu 1⁺, Leu 2a⁻, Leu 3a⁺とLeu 1⁺, Leu 2a⁻, Leu 3a⁻の二つのphenotypeの細胞群により惹起されていることを示した。

PPD特異的増殖反応におけるT細胞膜抗原の免疫生物学的活性を検討した。Leu 1分子は結核性胸膜炎および健常者末梢血単核球のPPD特異的増殖反応において明らかな免疫生物学的活性を有しているにもかかわらず、結核性胸水の単核球のPPD特異的T細胞増殖反応においては全く免疫生物学的活性を有していなかった。

しかしLeu 3a分子は結核性胸水ばかりでなく、結核性胸膜炎および健常者末梢血単核球のPPD特異的T細胞増殖反応において明確な免疫生物学的活性を有していた。

これらの結果より、PPD特異的T細胞活性化機構のひとつのモデルを考案した。

文 献

- 1) Engleman EG, et al: Studies of a human T lymphocyte antigen recognized by a monoclonal antibody. *Proc Nat Acad Sci (USA)* 78: 1791, 1981.
- 2) Engleman EG, et al: Antibodies to membrane structures that distinguish suppressor/cytotoxic and helper T lymphocyte subpopulations block the mixed leukocyte reaction in man. *J Exp Med* 153: 193, 1981.
- 3) Reinherz EL, et al: A monoclonal antibody with selective reactivity with functionally mature human thymocytes and all peripheral human T cells. *J Immunol* 123: 1312, 1979.
- 4) Reinherz EL, et al: Further characterization of the human inducer T cell subsets defined by monoclonal antibody. *J Immunol* 123: 2894, 1979.
- 5) Lampson LA and Levy R: Two populations of Ia-like molecules on a human B cell line. *J Immunol* 125: 293, 1980.
- 6) Gatenby PA, et al: Immunoglobulin secretion in the human autologous mixed leukocyte reaction. Definition of a suppressor-amplifier circuit using monoclonal antibodies. *J Exp Med* 156: 55, 1982.
- 7) Damle NK and Engleman EG: Immunoregulatory T cell circuits in man. Alloantigen-primed inducer T cells activate alloantigen-specific suppressor T cells in the absence of the initial antigenic stimulus. *J Exp Med* 158: 159, 1983.
- 8) Ellner JJ: Pleural fluid and peripheral blood lymphocyte function in tuberculosis. *Ann Intern Med* 89: 932, 1978.
- 9) Okubo Y, et al: PPD-specific proliferative response in humans. 1. Analysis of PPD-specific proliferative cells from tuberculous pleurisy patients and healthy controls with monoclonal antibodies specific for human T subsets. *Microbiol Immunol* 26: 511, 1982.
- 10) 大久保喜雄, 他: 宮崎肺吸虫症の 1 例. 細胞性免疫と液性免疫の検討. *日内会誌* 72: 56, 1983.
- 11) Engleman EG, et al: Activation of human T lymphocyte subsets: Helper and suppressor/cytotoxic T cells recognize and respond to distinct histocompatibility antigens. *J Immunol* 127: 2124, 1981.
- 12) Biddison WE, et al: Possible involvement of the OKT4 molecule in T cell recognition of class II HLA antigens. *J Exp Med* 156: 1065, 1982.
- 13) Krenoky AM, et al: Specificity of OKT 4+ cytotoxic T lymphocyte clones. *J Immunol* 129: 2001, 1982.
- 14) Meuer SC, et al: Clonal analysis of human cytotoxic T lymphocytes T4+ and T8+ effector T cells recognize products of different major histocompatibility complex regions. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 79: 4395, 1982.
- 15) Van Wauwe JP, et al: A monoclonal anti-human T lymphocyte antibody with potent mitogenic properties. *J Immunol* 124: 2708, 1980.
- 16) Chang TW, et al: Does OKT3 monoclonal antibody react with antigen recognition structure on human T cells? *Proc Natl Acad Sci (USA)* 78: 1802, 1981.
- 17) Reinherz EL, et al: A monoclonal antibody blocking human T cell function. *Eur J Immunol* 10: 758, 1980.
- 18) Reinherz EL, et al: Antigen recognition by human T lymphocytes is linked to surface expression of the T3 molecular complex. *Cell* 30: 735, 1982.
- 19) Thomas Y, et al: Relationship between human T cell functional heterogeneity and human T cell surface molecules. *Immunological Rev* 74: 113, 1983.
- 20) Okubo Y, et al: Serological cross-reactivity of murine A.TH anti-A.TL antibody (Anti-I-E^a antibody) with Ia-like molecules of human antigen presenting cells. *Cell Immunol* 76: 1, 1983.