

喘息児リンパ球の、 α -、 β -adrenergic 及び cholinergic receptor の機能評価—Active E-RFC を指標として

京都大学小児科 三 河 春 樹
久 保 田 優

喘息児リンパ球の、 α -、 β -adrenergic および cholinergic receptor の機能を、Wybran らの active-E-rossette forming cell (以下 Active E) に対する影響を指標として検討した。型のごとく Ficoll-Conray を用いて分離した健康人末梢血リンパ球では、 α -adrenergic (*l*-phenylephrine), cholinergic (carbachol) agent 刺激により対照に比し、Active E は増加し、 β -adrenergic (procatamol) agent により、Active E は、減少した。喘息児リンパ球では、procatamol に対する反応性は、低下している者が多く、一部には反応が逆転して、Active E が増加する者があった。また、carbachol 刺激に対しても、健康人の至適濃度では、反応の低下、逆転する者が存在した。さらに、dose-response を検討したところ、Active E 増加をきたす至適濃度がより低濃度へ、shift していることが判明した。一方、*l*-phenylephrine に対する反応は、比較的良く保たれていた。喘息児リンパ球における上記反応異常と、患児の年齢、治療様式、IgE 値等の間に有意の相関はなかった。

アレルギー性鼻炎やアトピー性皮膚炎の患児リンパ球

の一部にも、procatamol や carbachol に対して異常反応を呈するものがあり、これは喘息を初めとするアトピー性疾患の heterogeneity を示していると考えられる。喘息児における receptor 機能異常が、体質上のものか、 β -stimulant 等の薬剤投与による後天的なものかを鑑別するため、健康成人に1週間 β -stimulant (procatamol) を投与し、その前後の薬剤反応性の変化を検討した。投与前は、まったく正常パターンを呈した健康人例でも、投与1週間目には、procatamol により、Active E の増加、carbachol の dose response curve の低濃度への shift と、喘息児リンパ球に類似した反応を示した。この事実は、喘息児リンパ球の上記反応異常が、 β -stimulant 投与の結果である可能性を示唆する。一方、長期間、 β -stimulant の投与を受けていない喘息児や、 β -stimulant 投与の既往のない他のアトピー性疾患においても、異常反応を呈するものが存在することより、その constitutional な側面も完全には否定できない。今後さらに症例数をふやし、また、リンパ球の α -、 β -receptor を直接カウントする方法も合わせて、検討を重ねたい。

細胞融合法による IgG サブクラス特異抗体の作製

京都大学小児科 三 河 春 樹
細 井 進

気管支喘息およびアトピー性皮膚炎における IgG 免疫グロブリンの役割については明らかにされていない。この原因の一つとして、特定の抗原に対する特異 IgG 抗体の測定が容易でないことがあげられるが、IgG 免疫グロブリンの生物学的機能が、サブクラスに

よって異なっていることが最も重要であると考えられる。たとえば、血清中の特異 IgG 抗体は、抗原と IgE 抗体への結合に対し、競合し得るが、一方 IgG 4 抗体は、肥満細胞に結合し得るため、そのレアゲン活性も考えられる。IgG サブクラス特異抗体を作製することにより、

特定のアレルゲンに対する IgG 抗体のサブクラスを明らかにすることができるならば、そのアレルギー反応における役割を明らかにすることが可能であると思われる。

IgG サブクラス特異抗体を、ウサギなどに感作して得る通常の方法では、多量の純粋な各サブクラス IgG を精製し、抗血清の吸収を十分に行うことが必要である。しかも、その抗血清の特異性については問題を残し得るものと考えられる。

Köhler, Milstein らが始めた細胞融合法は、これらの問題点を解決するものと考えられる。われわれはこの

方法を用いて、IgG サブクラス特異抗体の作製を試みた。

ヒト IgG 感作 BAL B/C マウス脾細胞と、マウス形質細胞腫由来 NS-1 細胞とを、ポリエチレングリコールを用いて融合。HAT 培地にて融合細胞のみを増殖させ、約3週間後コロニーの出現した培養上清について、受身血球凝集反応にて検定した。抗体産生の認められるものをクローニングし、モノクローナルな抗ヒト IgG 抗体産生融合細胞腫を得た。さらにサブクラス特異性について検定した結果、今までに、IgG 共通、IgG 1・2・3, IgG 1・3・4, IgG 2・3 などに特異性を持つモノ

表 1 各融合細胞腫培養上清のヒト IgG サブクラスに対する受身血球凝集力価及び特異性

Specificity and Hemagglutination Titer of the Monoclonal Antibodies (HG-1)									
Antibody	IgG	HCE1	IgG2	HCE3	IgG4	F(ab') ₂	k	λ	Specificity
2 2 C	2 ⁸	2 ⁷	2 ⁶	<2	<2	<2	NI	NI	Fc (1,2)
2 4 E	2 ¹²	2 ¹⁰	2 ⁹	<2	2 ¹¹	<2	NI	NI	Fc (1,2,4)
2 5 A	2 ¹²	2 ¹⁰	2 ⁹	2 ⁵	2 ⁸	<2	NI	NI	Fc (1,2,3,4)
2 6 B	2 ⁷	2 ⁸	<2	2 ⁸	<2	<2	NI	NI	Fc (1,3)
3 1 E	2 ¹⁰	2 ¹¹	2 ⁹	<2	2 ⁹	<2	NI	NI	Fc (1,2,4)
4 6 F	2 ⁵	2 ⁵	2 ⁵	2 ⁴	<2	<2	NI	NI	Fc (1,2,3)
5 1 A	2 ⁸	2 ⁸	2 ⁷	2 ⁶	2 ⁵	<2	NI	NI	Fc (1,2,3,4)
5 4 B	2 ⁶	<2	2 ⁷	NI	<2	2 ⁵	2 ⁶	NI	k
5 6 L	2 ¹⁰	2 ¹¹	2 ⁹	2 ¹⁰	<2	<2	NI	NI	Fc (1,2,3)
6 3 C	2 ⁹	<2	2 ⁶	<2	<2	2 ⁸	<2	<2	
7 3 B	2 ⁵	<2	2 ⁶	<2	<2	2 ⁴	<2	<2	
2 1 A	2 ⁹	<2	<2	<2	<2	2 ⁶	<2	<2	

Specificity and Hemagglutination Titer of the Monoclonal Antibodies (HG-2)									
Antibody	IgG	HCE1	IgG2	HCE3	IgG4	F(ab') ₂	k	λ	Specificity
HG-2-1	2 ⁵	2 ⁵	<2	<2	<2	<2	<2	<2	Fc (1)
HG-2-2	2 ¹⁰	>2 ¹²	2 ⁹	2 ¹⁰	>2 ¹²	<2	<2	<2	Fc (1,2,3,+)
HG-2-6	2 ¹⁰	2 ¹¹	2 ⁶	2 ⁹	>2 ¹²	<2	<2	<2	Fc (1,2,3,4)
HG-2-7	2 ⁹	2 ¹¹	2 ⁶	<2	2 ¹¹	<2	<2	<2	Fc (1,2,4)
HG-2-8	<2	<2	2 ⁷	<2	2 ³	?	<2	<2	
HG-2-9	2 ⁷	2 ⁸	<2	2 ⁶	2 ⁷	<2	<2	<2	Fc (1,3,4)
HG-2-10	2 ¹¹	>2 ¹²	2 ¹⁰	2 ¹¹	>2 ¹²	<2	<2	<2	Fc (1,2,3,4)
HG-2-14	2 ¹⁰	2 ¹⁰	2 ⁹	>2 ¹²	2 ⁸	<2	<2	<2	Fc (1,2,3,4)
HG-2-15	2 ⁶	<2	2 ⁹	<2	2 ⁶	2 ⁷	<2	<2	F(ab') ₂
HG-2-16	2 ⁷	2 ⁷	2 ⁵	<2	2 ⁸	<2	<2	<2	Fc (1,2,4)
HG-2-18	2 ¹⁰	2 ¹²	2 ¹⁰	2 ⁵	2 ¹²	<2	<2	<2	Fc (1,2,3,4)
HG-2-19	2 ⁸	2 ⁸	2 ⁷	2 ¹²	<2	<2	<2	<2	Fc (1,2,3)
HG-2-20	2 ⁵	2 ⁷	2 ⁷	2 ⁸	2 ⁷	<2	<2	<2	Fc (1,2,3,4)
HG-2-22	2 ⁵	2 ⁷	<2	2 ⁴	2 ⁴	<2	<2	<2	Fc (1,3,4)
HG-2-25	2 ¹¹	>2 ¹²	2 ⁸	2 ¹⁰	>2 ¹²	<2	<2	<2	Fc (1,2,3,4)
HG-2-27	2 ⁴	<2	2 ⁷	<2	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷	<2	k

クローナル抗体を産生する融合細胞腫が得られた。

これらの融合細胞腫をプリステン処理した BAL B/C マウスの腹腔に移し、約3週間後腹水を採取した。腹水より多量のモノクローナル抗体を容易に得ることができ

た。

今後、今までに得られた抗体により、各サブクラスを精製し、これを用いて、各サブクラス一つに特異的なモノクローナル抗体産生融合細胞腫を作製する予定である。

気管支喘息と HLA-D 領域抗原系との相関に関する研究

北海道大学小児科	松	本	脩	三
	崎	山	幸	雄
	常	田	ひろみ	
北海道大学第1病棟	中	井	祐	子
	脇	坂	明	美
	相	沢		幹
市立札幌病院小児科	我	妻	義	則
市立江別病院小児科	富	樫		要

アトピー性疾患の病因に遺伝的素因が関与していることは多くの家族調査から明らかにされているが、その機序については種々の説が論じられているものの明確な結論はない。

近年、主要組織適合系 (MHC) の研究が進むにしたがい、HLA と疾患感受性との関連が多く報告されてきている。アトピー性疾患と HLA についても1971年以来、数々の報告がみられ、患者集団においては種々のアレルゲンと HLA との相関についてまちまちで否定的な結果が出されている。一方、多発家系における家族調査において、患者群では同一 haplotype を共有すると報告が多く、HLA に連鎖する疾患感受性遺伝子の存在が示唆される。この矛盾はアトピー性疾患の heterogeneity, アレルゲンの purity の問題、発症因子の多遺伝子性および検索した HLA 抗原系などに問題点があると考えられる。

私どもは前3者の問題点をふまえて、今回、気管支喘息患者のうち血清 IgE 値が高値を示し、皮内反応で *Dermatophagoides farinae* にのみ 2×10^4 倍以上の稀釈で陽性反応を示す対象を選び、従来の HLA-A, -B, -C 抗原系に加えて免疫応答遺伝子 (Ir-gene) の存在が示唆されている HLA-D 領域抗原 (HLA-DR, MB お

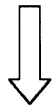
よび MT 抗原系) の検索を行った。すなわち、これらの疾患発症には Ir-gene の関与が想定され、それには HLA-D 領域抗原の検索は不可欠であるからである。

検索を行った患者数は23名で (男18名, 女5名)、平均年齢は11.3才 (5~40才) および平均総血清 IgE 値は 2,077u/ml (1,150~3,900u/ml) であった。

患者のリンパ球を第8回国際組織適合性ワークショップ方法に基づいて、T-, B-cell に分離し、細胞障害性試験を行った。使用した抗血清は HLA-A, -B, -C 抗原系については66種、HLA-D 領域抗原系については50種である。

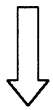
検索した24種のいずれの HLA-A, -B 抗原特異性とも有意の相関は認められなかった。さらに検索した9種のいわゆる HLA-DR 抗原特異性とも有意の相関は認められなかった。しかし、MB 抗原系のうち MB 3' が患者群では100%を示し、対照群の72%に比し corrected $\phi=0.04$ と有意の相関を示した。この相対危険度は18.5である (表1)。すなわち、MB 3' を持つ人は MB 3' を持たない人に比べ、18.5倍も気管支喘息になりやすいわけである。なお、以上の結果は23名の患者中、男18名についても同様の傾向であった。

MB 抗原系は B-cell alloantigen であり、いわゆる



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



気管支喘息およびアトピー性皮膚炎における IgG 免疫グロブリンの役割については明らかにされていない。この原因の一つとして、特定のアレルゲンに対する特異 IgG 抗体の測定が容易でないことがあげられるが、IgG 免疫グロブリンの色物学的機能が、サブクラスによって異なっていることが最も重要であると考えられる。たとえば、血清中の特異 IgG 抗体は、抗原と IgE 抗体への結合に対し、競合し得るが、一方 IgG4 抗体は、肥満細胞に結合し得るため、そのレアギン活性も考えられる。IgG サブクラス特異抗体を作製することにより、特定のアレルゲンに対する IgG 抗体のサブクラスを明らかにすることができるならば、そのアレルギー反応における役割を明らかにすることが可能であると思われる。