

です。そうしますと、モノクローナル抗体1つだけ使ってやっている場合に、その交差性で反応している抗原を、どうやってチェックしていくかというのは、非常に問題あると思います。その一つとして、やはり、気をつけなければならないのは、やはり control をしっかりする。すなわち、細胞であれば、HLA の抗原研究が、非常に進んだように、パネル cell をしっかりもつ。組織であれば、色々な組織由来の純粋抗原をしかりもつ。そういう方法が絶対必要なのではないかと思います。それで、これから発表なさる方に、ぜひ、そういうことも含めて、発表していただきたいと思います。

司会 有難うございました。これからの speaker の

方は、その点をちょっと頭において頂きたいと思います。今の問題ですね。先程、渡部先生がご指摘になった問題点、異種血清であるという問題は沈降しにくいという問題に加えて、もう一つの非常に大きな問題なのではないかと思います。他にございませんか。それでは、時間の関係もありますので、臨床応用という本題に入りたいと思います。これからのご演題に対しては、基礎の先生方へもご遠慮なく、ご発言いただければ幸いです。

第二席は、腎疾患への応用という題で、第二内科の中村先生お願いいたします。

## 2) ヒト腎糸球体成分に対するモノクローナル抗体

新潟大学医学部第二内科 中村 享道・荒川 正昭

新潟大学医学部腎研免疫 追手 巍・清水不二雄

ヒト糸球体疾患においては、免疫 globulin, 補体成分、および凝固因子等の腎糸球体への沈着が証明され、これらの因子がその発症・進展に関与していることが示唆されている。しかし、各種糸球体疾患における細胞および細胞間物質の増殖の機序、分布および質的变化について、現時点では不明な点が多い。

細胞融合法<sup>1)</sup>の導入により、細胞表面抗原や細胞間物質の domain に特異的に反応する抗体の作製が容易となり、細胞の同定および細胞間物質の構造や局在の分析に用いられている。現在までに、単離糸球体、単離糸球体基底膜、あるいは腎皮質 homogenate などを抗原として用いて、糸球体および尿細管上皮細胞<sup>2) 3) 4)</sup>、IV 型 collagen, fibronectin を含む細胞間物質<sup>5) 6)</sup>を認識する種々の monoclonal 抗体が作製されている。糸球体疾患の解析には、上記 monodonal 抗体以外に、糸球体成分に特異的な marker が必要である。著者らは、mesangium 細胞を含む糸球体成分に対する monoclonal 抗体の作製を、培養ヒト胎児腎皮質細胞を抗原として試み、腎糸球体と反応する2種の monoclonal 抗体を得たので、若干の考察を加えて報告する。

### 方 法

抗原、月令7ヶ月の早産死亡胎児より腎を摘出後、滅菌生理食塩水中でその被膜と髄質部分を除去し、皮質部分は1mm 立方に細切した。細切した組織片を37°C、

5分間 trypsin 処理後、1,000rpm で5分間遠心し、沈渣を20% FBS-RPMI 1640 培地に浮遊した。ついで、50ml 培養 flask に5ml ずつ分注し、37°C 5% CO<sub>2</sub> incubator で培養した。細胞が confluent な状態の時に、0.05% trypsin, 0.01% EDTA 含有 Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> free Dulbecco's-PBS 溶液にて処理後、継代培養した。

免疫; 雄 BALB/C マウス6匹に、培養胎児腎皮質細胞を5~6代継代培養し、10mM EDTA で培養 flask より集め、10<sup>5</sup>個をCFA とともに免疫した。最終投与は腹腔内と静脈内に行った。

融合細胞の作製; 最終免疫4日目に、マウスの脾よりリンパ球浮遊液を得、NS-1 (P3-NS1/1-AG 4-1) と10:1の割合で混合し、polyethylene glycol 4,000 を用いて、細胞融合を行った。細胞融合翌日より、HAT 培地で10日間、引き続き HT 培地で10日間培養し、融合細胞を選別した。培養上清中の抗体活性は、正常ヒト腎組織を用いて、蛍光抗体間接法で screening した。

免疫組織学的検討; 蛍光抗体間接法および電顕酵素抗体法を用いて行った。

monoclonal 抗体 (moAb) の class および subclass; ヤギ抗マウス IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgA および IgM 抗体を用いて、蛍光抗体間接法および Ouchterlony 法で検討した。

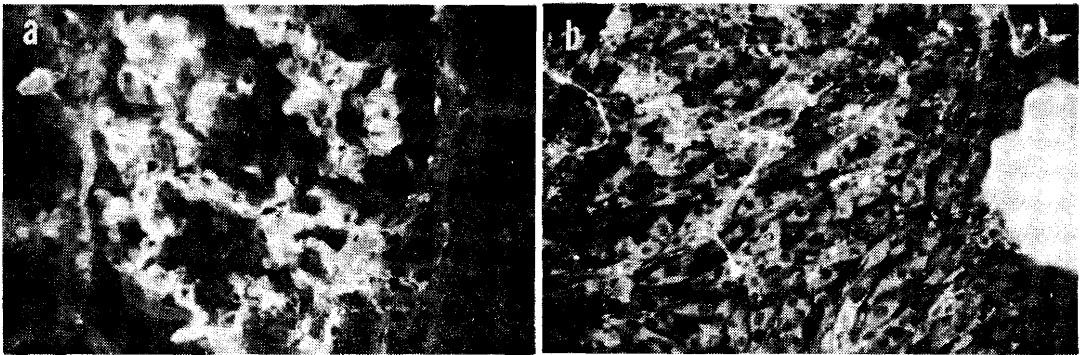
moAb 対応抗原の可溶性; Burlington ら<sup>7)</sup>の方法に従って、腎より糸球体を単離し、蒸留水に浮遊した。

遠心にて, cell membrane fraction と extracellular matrix rich fraction とに分離した. cell membrane fraction は 1.0% deoxycholate (DOC) で可溶化し, extracellular matrix rich fraction は collagenase または pepsin で消化, あるいは 2.0M guanidine HCl, または 4.0M urea で抽出した. それぞれの可溶化糸球体成分および糸球体培養上清中の moAb 対応抗

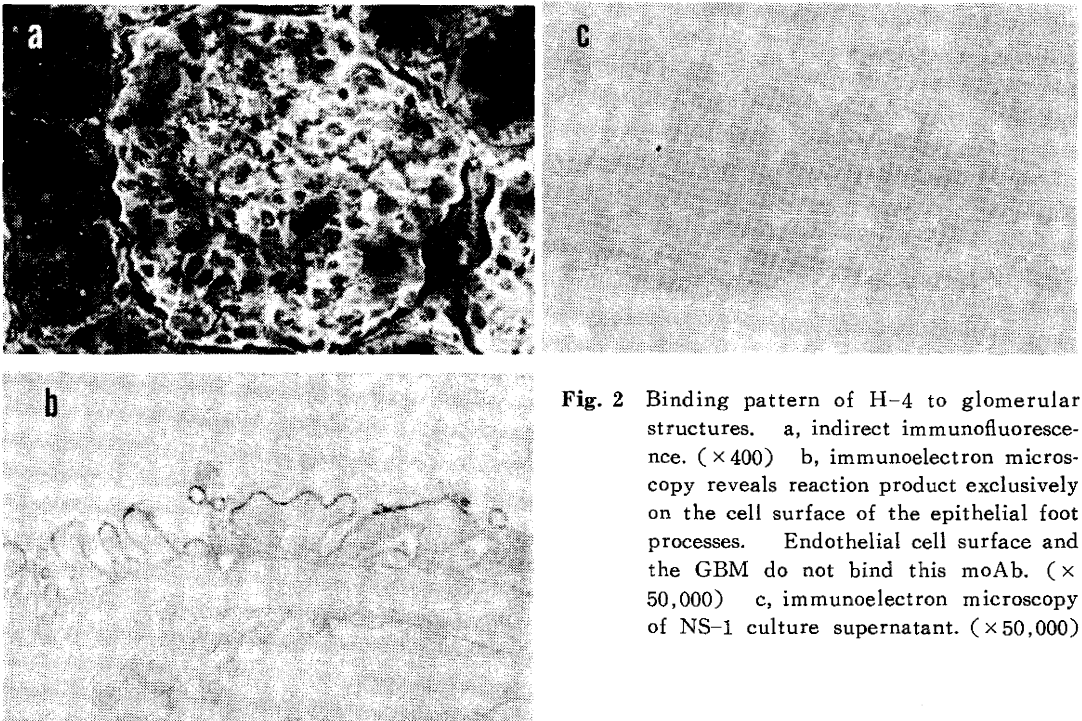
原の存在に関して, dot immunobinding assay<sup>8)</sup> を用いて検索した.

fibronectin の精製; Engvall<sup>9)</sup> らの方法に従って, gelatin-sepharose 4B affinity column を用いて精製した.

fibronectin の酵素分解; Sekiguchi<sup>10)</sup> らの方法に準じて, thermolysin で 22°C, 4時間消化した.



**Fig. 1** Immunofluorescence of human kidney sections and primary cultured glomeruli with H-13.  
a, H-13 reacts with the mesangium, but not the GBM nor the renal interstitium. ( $\times 400$ )  
b, H-13 reacts with the extracellular matrix produced by the outgrowth cells in the primary culture of the glomeruli. ( $\times 200$ )



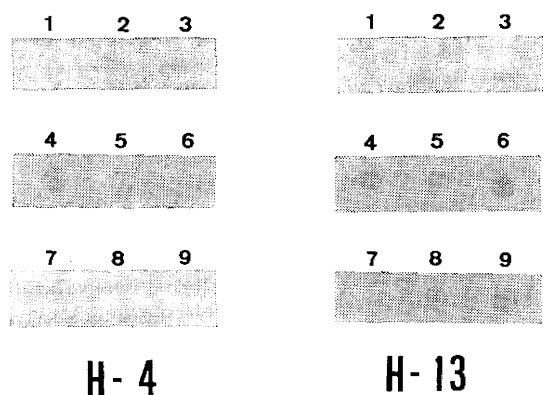
**Fig. 2** Binding pattern of H-4 to glomerular structures. a, indirect immunofluorescence. ( $\times 400$ ) b, immunoelectron microscopy reveals reaction product exclusively on the cell surface of the epithelial foot processes. Endothelial cell surface and the GBM do not bind this moAb. ( $\times 50,000$ ) c, immunoelectron microscopy of NS-1 culture supernatant. ( $\times 50,000$ )

Na Dod SO<sub>4</sub>/Polyacrylamide gel および immuno blot analysis; 可溶化された糸球体成分および thermolysin 消化 fibronectin は、5~15% gradient gel を用いた SDS-PAGE によって分析した<sup>11)</sup>。電気泳動後の gel から nitrocellulose sheet に電氣的に転写した<sup>12)</sup>。転写した sheet は、5% BSA-PBS 溶液中で30分間処理後、融合細胞または NS-1 の培養上清、あるいは家兎抗 fibronectin 抗血清と反応させ、引き続き peroxidase 標識抗マウスあるいは抗家兎免疫 globulin 抗血清と反応させた。

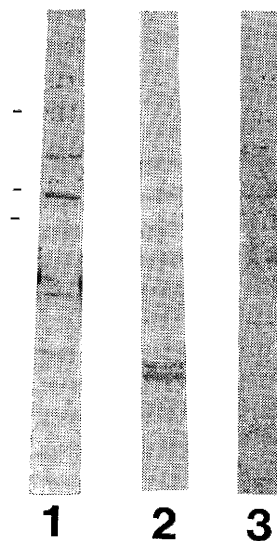
### 結 果

腎糸球体と反応する2種の moAb が得られた (Fig. 1a および 2a)。これらは IgM class の抗体であった。H-13 は、糸球体 mesangium と反応し (Fig. 1a)、また糸球体初代培養では、extracellular matrix と反応していた (Fig. 1b)。H-4 は Fig. 2a の如き陽性パターンを示した。電顕酵素抗体法にて、H-4 は糸球体上皮細胞表面と反応していることが示された (Fig. 2b)。

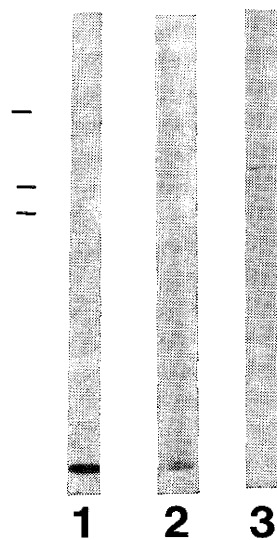
H-4 対応抗原は、1.0% DOC と同様に、2.0M guanidine HCl や 4.0M urea で可溶化された。H-13 対応抗原は、2.0M guanidine HCl および 4.0M urea で可溶化され、また糸球体培養上清中にも検出された。さらに、H-13 は糸球体培養上清および血漿から精製された fibronectin と反応した (Fig. 3)。糸球体上清に



**Fig. 3** Dot immunobinding assay of moAbs. 1, pepsin digested; 2, collagenase digested; 3, 1.0% DOC solubilized; 4, 2.0M guanidine HCl extracted; 5, 4.0M urea extracted glomeruli; 6, glomerular culture supernatant; 7, culture media; 8, fibronectin purified from plasma; 9, fibronectin purified from glomerular culture supernatant.



**Fig. 4** Immunoblot analysis of thermolysin digested fibronectin. lane 1, nitrocellulose sheet stained with Amido black; lane 2, nitrocellulose sheet incubated with anti fibronectin antisera; lane 3, nitrocellulose sheet incubated with H-13. The molecular markers are myosin (200,000), beta-galactosidase (116, 250), phosphorylase b (92,500), ovalbumin (43,000), and carbonic anhydrase (30,000).



**Fig. 5** 2.0M guanidine HCl extracts of isolated glomeruli separated on 5~15% gradient gels (lane 1) and transferred onto nitrocellulose (lane 2 and 3). lane 1, gel stained with Coomassie blue; lane 2, nitrocellulose sheet stained with Amido black; lane 3, nitrocellulose sheet incubated with H-4. Molecular mass markers are described in the legend to Fig. 4.

対して、H-13 は非還元下では 440kd の、また還元下では 220kd の polypeptide とそれぞれ反応した。H-13 は、thermolysin で消化した fibronectin の 145kd と 110kd の fragment と反応したが、38-29kd の fragment とは反応しなかった (Fig. 4)。H-4 は、2.0M guanidine HCl 可溶性糸球体成分中の 125kd polypeptide と反応した (Fig. 5)。

## 考 案

腎構成成分に対する moAb に関して、いくつかの報告がなされているが<sup>2) 3) 4) 5) 6)</sup>。これらは主に免疫組織学的に検討されている。この方法は、認識抗原の局在の分析のみならず、認識抗原決定基の鑑別にも有効である。近年、同一物質上の異なった決定基を認識する moAb による染色パターンが互いに全く異なっている事例も報告されており<sup>18)</sup>、moAb 対応抗原を同定する事が重要と考えられた。我々は、培養胎児腎皮質細胞を抗原として、糸球体と反応する 2 種の moAb を作製し、糸球体培養上清あるいは可溶性糸球体成分より、immunoblot analysis にて moAb 対応抗原を同定した。

腎糸球体上皮細胞に対する moAb について、これまでいくつか報告されている<sup>2) 3) 4)</sup>。この中の 1 つはヒト糸球体臓側上皮細胞に特異的であり<sup>4)</sup>、他の moAb は種特異性を有している<sup>2) 3)</sup>。H-4 は、ヒトとラットの糸球体臓側および壁側上皮細胞と反応し、H-4 がこれらの報告にある moAb 対応抗原を認識していないと考えられた。糸球体上皮細胞表面には、HLA 抗原や C<sub>3</sub> breceptor の存在が報告されている。HLA 抗原は class I および class II polypeptide から成り、これらの分子量は 100kd 以下である。また、C<sub>3</sub>b receptor は分子量 205kd の glycoprotein である。H-4 は 125kd polypeptide と反応しており、これら膜関連抗原を認識していないと考えられた。

trypsin 消化によって糸球体より 3 種の sialoprotein が分離され、その分子量は 145-97kd であると報告されている<sup>19)</sup>。これらの protein に対する抗血清は、上皮細胞の細胞膜と細胞質および内皮細胞の一部と反応したという。近年、140kd の protein が糸球体上皮細胞の主要な sialoprotein とされ、糸球体上皮細胞および内皮細胞の細胞膜に局在すると報告された<sup>19)</sup>。これらの protein に対する抗血清は H-4 と基本的に異なる染色様式を示しているが、H-4 対応抗原の分子量はこれら sialoprotein のそれと近似している。この事は、H-4

が上皮細胞に局在している sialoprotein に関連した決定基を認識している可能性を示すものである。この事を明らかにするために、H-4 対応抗原の単離同定を試みている。

fibronectin に対する moAb は Michael らによって報告されているが<sup>9)</sup>、この moAb は肝、肺、皮膚と反応した。また、ヒト fibronectin とのみ反応する種特異的な moAb も報告されている<sup>10)</sup>。H-13 は肝、子宮平滑筋とは反応したが、肺、皮膚とは反応しなかった。また、H-13 はモルモットの腎糸球体とも反応した。以上より、H-13 は既報の 2 種の抗 fibronectin moAb の認識抗原決定基とは異なった部位を認識している事が明らかとなった。

H-13 は、thermolysin で消化した fibronectin の 145kd と 110kd fragment と反応したが、38-29kd fragment とは反応しなかった。thermolysin による消化によって、fibronectin は functional domain に分解される<sup>17)</sup>。145kd fragment は cell binding domain と heparin binding domain からなり、110kd fragment は cell binding domain であり、38-29kd fragment は heparin binding domain と報告されている<sup>17)</sup>。したがって、H-13 は fibronectin の cell binding domain を認識していると考えられる。

以上、ヒト腎糸球体に対する 2 種の moAb を報告した。H-4 は、糸球体上皮細胞膜を構成している 125kd polypeptide を認識しており、H-13 は fibronectin の cell binding domain を認識していた。臨床的には、H-4 は膜性腎症の数例で糸球体との反応性が減弱しており、種々の糸球体疾患における上皮細胞の変化を解析する上で有用であると考えられた。また H-13 は、膜性腎症の症例で polyclonal 抗 fibronectin 抗血清と異なった糸球体分布を示しており、今後その意義を検討していく予定である。

## ま と め

培養胎児腎皮質細胞を抗原として用い、ヒト腎糸球体と反応する 2 種の monoclonal 抗体を得た。H-4 は糸球体上皮細胞表面と反応し、H-13 は糸球体 mesangium にある細胞間物質を認識した。H-4 対応抗原は、1.0% deoxycholate, 2.0M guanidine HCl, および 4.0M urea で可溶化された。H-13 対応抗原は、2.0M guanidine HCl および 4.0M urea で可溶化され、かつ糸球体培養上清中にも検出された。H-13 は、糸球体培養上清および血漿から精製された fibronectin と反

応した。さらに、H-13 は、thermolysin で消化した fibronectin の 145kd と 110kd fragment と反応した。H-4 は、2.0M guanidine HCl 可溶性糸球体成分の 125kd polypeptide と反応した。以上より、H-4 は糸球体上皮細胞膜を構成する 125kd polypeptide を、H-13 は fibronectin の cell binding domain をそれぞれ認識することが判明した。

### 参 考 文 献

- 1) Kohler, G. and Milstein, C.: Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, **256**: 495, 1975.
- 2) Hancock, W.W. and Atkins, R.C.: Monoclonal antibodies to human glomerular cells: A marker for glomerular epithelial cells. *Nephron*, **33**: 83, 1983.
- 3) Mendrick, D.L., Rennke, H.G., Cotran, R.S., Springer, T.A. and Abbas, A.K.: Monoclonal antibodies against rat glomerular antigens: production and specificity. *Lab. Invest.*, **49**: 107, 1983.
- 4) Muller, G.A. and Muller, C.: Characterisation of renal antigens on distinct parts of human nephron by monoclonal antibodies. *Klin. Wochenschr.*, **61**: 893, 1983.
- 5) Shimizu, F., Orikasa, M., Sato, K. and Oite, T.: Monoclonal antibodies to rat renal antigens. *Immunology*, **42**: 319, 1984.
- 6) Michael, A.F., Yang, J.Y., Falk, R.J., Bennington, M.J., Scheinman, J.I., Vernier, R.L. and Fish, A.J.: Monoclonal antibodies to human renal basement membranes: heterogenic and ontogenic changes. *Kidney Int.*, **24**: 74, 1983.
- 7) Burlington, H. and Cronkite, E.P.: Characteristics of cell cultures derived from glomeruli. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **142**: 143, 1973.
- 8) Hawkes, R., Niday, E. and Gordon, J.: A dot-immunobinding assay for monoclonal and other antibodies. *Anal. Biochem.*, **119**: 142, 1982.
- 9) Engvall, E. and Ruoslahti, E.: Binding of soluble form of fibroblast surface protein, fibronectin, to collagen. *Int. J. Cancer*, **20**: 1, 1977.
- 10) Sekiguchi, K., Fukuda, M. and Hakomori, S.: Domain structure of Hamster plasma fibronectin isolation and characterization of four functionally distinct domains and their unequal distribution between two subunit polypeptides. *J. Biol. Chem.*, **256**: 6452, 1981.
- 11) Laemmli, V.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. *Nature*, **227**: 680, 1970.
- 12) Towbin, H., Staehelin, T. and Gordon, J.: Electrophoretic transfer of proteins from gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**: 4350, 1979.
- 13) Odermatt, B.F., Lang, A.B., Ruttner, J.R., Winterhalter, K.H. and Trueb, B.: Monoclonal antibodies to human type IV collagen. Useful reagents to demonstrate the heterotrimeric nature of the molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**: 7343, 1984.
- 14) Nevin, T.E. and Michael, A.F.: Isolation of anionic sialoproteins from the rat glomerulus. *Kidney Int.*, **19**: 553, 1981.
- 15) Kerjaschki, D., Sharkey, D.J. and Farquhar, M.G.: Identification and characterization of podocalyxin-the major sialoprotein of the renal glomerular epithelial cell. *J. Cell Biol.*, **98**: 1591, 1984.
- 16) Kotliansky, V.E., Arsenyeva, E.L., Bogacheva, G.T., Chernousov, M.A., Glukhova, M.A., Ibraghimov, A.R., Metsis, M.L., Petrosyan, M.N. and Rokhlin, O.V.: Identification of the species-specific antigenic determinant(s) of human plasma fibronectin by monoclonal antibodies. *FEBS Letters*, **142**: 199, 1982.
- 17) Zardi, L., Canemolla, B., Balza, E., Borsi, L., Castellani, P., Rocco, M. and Siri, A.: Elution of fibronectin proteolytic fragments from a hydroxyapatite chromatography column. A simple procedure for the purification of fibronectin domains. *Eur. J. Biochem.*, **146**: 571, 1985.

司会 有難うございました。

ただ今の発言は、ご自分の所でお作りになった H-4、それから H-13 というモノクローナル抗体についてのまず基礎的な検討をされて、つぎに色々な腎疾患の biopsy specimen を用いての応用面をお話しになったわけです。どなたか、ご発言ございますでしょうか。追手先生は、共同演者ですから、先程先生がご指摘になった点は、よく吟味しておられると思うのですが、何かご発言ありますか。

追手 中村先生を中心にしてモノクローナル抗体を作っているのですが、今の H-4 は、腎臓をやっている方は、非に興味があると思います。なぜかと言いますと、上皮の表面を染めているわけです。そうすると、上皮の表面は、タンパク尿がある状態では、シアル酸を染める染色法では、非常に染色性が落ちます。そうするとタンパク尿と H-4 の染色性が相関する可能性があります。非常に興味があると思うのですが、今までの中村先生のデータから推測するに、どうもタンパク尿と相関していない。だから、シアル酸の関連抗原ではなさそうだということになります。実際にタンパク尿だとか、あるいは、細胞の増殖だとかいうものと平行するような抗原を認識するモノクローナル抗体が得られることを、僕は期待しているのですけれども、今のところは、そういう状況です。

司会 有難うございました。藤原先生、どうぞ。

藤原 モノクローナル抗体が認識している抗原決定基の問題なのですけれども、最初、確かモノクローナル抗原を作用せて、分離してこられたのですね。440k と 220k というので、それと最後に出てきた 110k というのは、抗原としてともかく、何かというのがはっきりわからなかったものですから。

中村 糸球体培養上清中には、種々の細胞間物質や牛胎児血清が含まれていますが、この培養上清をそのまま SDS 電気泳動した後、ニトロセルロース膜に転写して、抗体と反応させました。H-13 は、440kd の band と反応し、また培養上清を還元後、同様の操作をしますと、220kd の band と反応しました。この事から、H-13 対応抗原は、440kd で還元によって 220kd に分解される物質である事がわかりました。

藤原 110k というのは？

中村 H-13 がファイブロネクチンを認識している事が、培養上清および血漿から精製したファイブロネクチンを用いて dot immunobinding assay を行ったとこ

ろ、判明しました。そこで、ファイブロネクチンのどの functional domain を認識しているかを thermolysin で消化したファイブロネクチンを用いて immuno blot analysis を行いました。polyclonal 抗ファイブロネクチン抗血清は 16 近くの band と反応しましたが、H-13 は 110kd と 145kd の band とのみ反応しました。この band はファイブロネクチンの cell binding domain であると言われています。

藤原 おっしゃった通りだと思いますけど、細いというのではなくて、もっと大きく問題を出しますと、結局、モノクローナル抗体がとれると、それと反応するものがとれてくるのではないかと、みんな期待をもって色々な事をやられていると思うのです。たとえば、主要抗原ですと、主要特異抗原に対するモノクローナル抗体をとったりすると、それで、主要特異抗原が決まるのではないかという期待をもったら、なかなか決まらないという話も聞いているのですね。こういう試みをする時は、中村先生はモノクローナル抗体がとれたなら、それに対する抗原というのは、モノクローナル抗体を使って精製してきて、それを第一にもってきて、それを何だというふうに決められるかどうか、そういう方法もやられていますか。もし、それだったら、どういうふうな難しさというか、その辺を教えてくださいたいと思います。

中村 immunoprecipitation を用いた抗原の精製は、私たちも何回も試みましたが、今まで成功していません。原因としては、私たちの抗体が IgM クラスの抗体で protein A を使用できず、CNBr 活性化 sepharose 4B に抗体を結合させたため、抗体の sepharose 4B への結合が不十分であった事、抗原の可溶性に比較的高濃度の urea や guanidine HCl を用いているため、抗体の sepharose 4B への結合は充分であるが、抗原抗体反応が起きなかった事などが考えられました。

司会 よろしいでしょうか。他にございませんか。ちょっと臨床家の立場からお伺いしたいのですが、今、お採りになった HA-4 と H-13 です。そういうモノクローナル抗体を使って、臨床的な material を使って、従来の腎炎の分類と相関がありそうだとおっしゃったのですか。もし、あるとすれば、それはどういうことなのかということをおっしゃってご説明いただけますか。

中村 まず、H-4 ですが、膜性腎症でかなり減弱している症例が認められ、微小変化群の 2 例では大量の蛋白尿がみられるが、H-4 の反応性の減弱は認められま

せんでした。症例が少ないのではっきりとは言えませんが、おそらく蛋白尿による影響ではないと考えられます。膜性腎症の場合、上皮下に deposit がありますが、この中に含まれている membrane attack complex による上皮細胞障害がこの疾患における蛋白尿の原因とも考えられており、このような障害によって、H-4 対応抗原の減少が生じる可能性あるいは、そこにある deposit によって mask される可能性等が考えられます。H-4 は種々の腎疾患における蛋白尿の成因を明らかにするのに有用と考えられます。またもう一つの H-13 の方ですが、膜性腎症で、polyclonal 抗フィブロネクチン抗体の染色パターンと異った染色パターンを H-13 が示す症例がありましたが、これは cell binding domain が欠如したフィブロネクチンがそこにあると言うよりも、むしろ立体構造の違いによって対応抗原が検出できなくなった可能性が考えられます。種々の細胞間物質に対する polyclonal および monoclonal 抗体、あるいは糸球体細胞に対する monoclonal 抗体を作製し、腎疾患における糸球体細胞の変化および細胞間物質の分布や存在様式の変化を分析する事で、腎炎の発症進展の機序がかなり明らかにされると考えられます。

司会 荒川先生どうぞ。

荒川 第二内科の荒川です。只今お話しになられたように H-13 はメサンギウム基質の構成成分の一つであるフィブロネクチンに対する抗体であることがわかりました。同じように、メサンギウム基質のなかのヘパランサルフェートや他の物質、あるいはメサンギウム細胞の膜成分や細胞質物質などに対する抗体が、三つ四つ得られれば、メサンギウム増殖腎炎におけるメサンギウム反応をより明らかにすることが出来ますし、更に腎炎の発症のメカニズムに迫ることが出来るのではないかと期待をもっています。現在までのところ、メサンギウム細胞の膜成分に対する抗原の方はなかなかできないので苦労しています。

司会 そうしますと、たとえば、その発症の stage ですね、staging されるというのも当然出てくる可能性はあるわけですね。

荒川 もし、メサンギウム細胞の膜抗原に対する抗体と、いくつかの基質に対する抗体ができれば、かなり clear に発症、および進展の機序がわかるのではないかと期待しています。

司会 他にございませんか。それでは、どうも有難うございました。第三席に移ります。第三席は肝疾患への応用ということで、第三内科の山舗先生、お願いいたします。

### 3) 肝 疾 患 へ の 応 用

原発性胆汁性肝硬変における単クローン抗体を用いた  
末梢血 T cell subsets の解析

新潟大学第3内科 山舗 昌由・市田 文弘

単クローン抗体はその高い抗原特異性から細胞膜抗原の解析にも応用され、特にリンパ球においては T 細胞の分化、亜群による抗原性の相違が、OKT シリーズとして知られる単クローン抗体により明らかにされて来た。

ここでは、自己免疫性肝疾患の一つに数えられ、多彩な臨床像を呈する原発性胆汁性肝硬変(PBC)の末梢血リンパ球 T cell subsets について、臨床像と対比させて検討したのでその概要を述べる。

#### 対 象 と 方 法

対象は組織学的に確診した PBC 26例で、臨床的に無症候性の群(As 群)12例、黄疸を認めず皮膚掻痒感

のみを訴える群(Pr 群)6例、顕性黄疸を認める群(Ja 群)8例の3群に分類した。なお健常者(N)28名を正常対照、他の慢性肝疾患(CLD)30例を疾患対照とした。

方法は末梢血より比重遠心法にてリンパ球を分離し、3回の洗浄後  $5 \times 10^6/\text{ml}$  濃度に調整、その  $200\mu\text{l}$  に Ortho 社の単クローン抗体 OKT 3(全 T cell)、OKT 4(helper/inducer T cell)、OKT 8(suppressor/cytotoxic T cell)を各々に  $2\mu\text{l}$  加え、 $4^\circ\text{C}$ 、30分間反応させ、2回洗浄、ついで FITC 標識抗マウス・グロブリン(ヤギ)を加え、同様操作を繰り返した後、蛍光顕微鏡下で蛍光陽性細胞を算定した。