

成人 T 細胞白血病・リンパ腫患者ならびに
ヒト T 細胞指向性ウイルス I 型
感染健全人の免疫機能

新潟大学医学部ウイルス学教室 (主任: 浜田忠弥教授) 宮 腰 秀 夫

Immunological Function in Patients with Adult T-Cell
Leukemia/Lymphoma and in Healthy Persons Infected
with Human T-Lymphotropic Retrovirus Type I

Hideo MIYAKOSHI

Department of Virology, Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Chuya HAMADA)

Immunological functions of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were examined in patients with adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) and in healthy persons who were positive for antibody (seropositive) to human T-lymphotropic retrovirus type I (HTLV-I). The lowered immunoreactivity of PBMC was observed in ATL patients when the mitogen-induced lymphoproliferation and the natural killer cell activity were used as the nonspecific immunological parameter. In contrast, PBMC from seropositive healthy persons possessed normal reactivity except for the staphage lysate-induced lymphoproliferation. The spontaneous DNA synthesis of PBMC was extremely high in both ATL patients and seropositive healthy persons.

HTLV-I-producing cells were lysed by the PBMC from seropositive and seronegative healthy persons in the presence of natural antibodies to HTLV-I-related antigens (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC). Effector cells of ADCC were Leu 7⁺ K cells. However, no cytotoxicity was caused by PBMC from ATL patients even in the presence of antibody. As an antibody source, plasmas from ATL patients as well as seropositive healthy persons were effective in not only ADCC but also complement-dependent cytotoxicity against HTLV-I-producing cells when supplemented with rabbit serum as a complement source.

According to these results, it is plausible to consider that the depression of immunological functions, especially cell-mediated immunoreactivity, is correlated with the HTLV-I-induced malignancy.

Key words: adult T-cell leukemia/lymphoma, human T-lymphotropic retrovirus type I, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, complement-dependent cytotoxicity, peripheral blood mononuclear cells.

成人 T 細胞白血病・リンパ腫, ヒト T 細胞指向性ウイルス I 型, 抗体依存性細胞性細胞障害, 補体依存性細胞障害, 末梢血単核細胞.

Reprint requests to: Hideo Miyakoshi,
Shinrakuen Hospital, Nishiariakecho
1-27, Niigata-shi, 950-21, JAPAN.

別刷請求先: 〒950-21 新潟市西有明町1-27,
信楽園病院 宮腰秀夫

成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (adult T-cell leukemia/lymphoma, ATL) はヒト T 細胞指向性ウイルス I 型 (human T-lymphotropic retrovirus type I, HTLV-I) を起因源とする。同患者末梢血リンパ球から樹立された細胞株より HTLV-I が分離され^{13, 2)}、培養した患者リンパ球にウイルス抗原の発現が認められ^{3) 4)}、ATL 細胞 DNA にプロウイルス塩基配列が検出され⁵⁾、また患者は例外なく HTLV-I 抗体を保有する⁶⁾ ことによる。

疫学調査によれば、本疾患には地域集積性が認められ、我が国では九州・四国地方に、また海外ではカリブ海沿岸、および中央アフリカで例数が多い^{7) 8)}。一方、患者周辺には多くの抗体陽性健康人が存在する^{9) 10) 11)}。ATL 発症率は抗体陽性者 1,600 人に 1 人と推定されている¹¹⁾。さらにこれら抗体陽性健康人末梢血リンパ球を培養するとウイルス抗原の発現や HTLV-I 産生のみられることが報告されている^{9) 12)}。これらの知見は健康人抗体陽性者の一部にプロウイルスを保有しながら発症しない者のあることを意味する。しかし、本疾患の発症規定要因は今のところ未知である。

本研究では、ATL 発症規定要因として免疫系の関与を想定、末梢血を試料として患者、抗体陽性健康人、ならびに抗体陰性健康人の間でリンパ球の各種 mitogen に対する応答能、natural killer (NK) 活性、および ATL 細胞に対する ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) 活性を比較検討した。得られた結果を記載、考察する。

実験材料と方法

末梢血単核細胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) の分離：ATL 患者、患者家族、ならびに非血縁健康人よりヘパリン加採血、血漿を遠心分離後 Ficoll-Conray 比重遠心法¹³⁾にて PBMC を分離した。

HTLV-I 抗体の検出¹⁴⁾：血漿中の HTLV-I 抗体は、アセトン固定した HTLV-I 産生 MT-2 細胞¹⁵⁾ (高知医科大学、三好勇夫博士より供与) を抗原とした間接蛍光抗体法 (indirect immunofluorescence microscopy, IFM)、ならびに超遠心分離法にて精製した HTLV-I を抗原とした酵素免疫定量法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) で検出した。

Mitogen 刺激応答能¹⁶⁾：PBMC, 1.5×10^6 個を 20% ヒト AB 型血清 (ただし抗体陰性健康人由来) 含有

RPMI-1640 培養液 1ml に浮遊、その 100 μ l を 96 穴平底プレートに分注、T 細胞 mitogen として phytohemagglutinin-P (PHA, Difco Lab., MI, USA, 10 μ l/ml)、および concanavalin A (Con A, Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, Sweden, 12.5 μ g/ml)、T・B 両細胞 mitogen としては Staphage Lysate (SPL, Delmont Lab., PA, USA, 25 μ l/ml)¹⁷⁾ 各 100 μ l を加え、37°C、5% 炭酸ガス加湿環境で培養した。培養時間は PHA 添加群 3 日間、Con A および SPL 添加群 5 日間とし、培養終了 24 時間前に ³H-methyl thymidine (³H-thymidine, New England Nuclear, England, 比活性 5Ci/mM) をウェル当たり 0.1 μ Ci 添加、培養終了時 PBMC をセルハーベスターを用いてガラス繊維濾紙上に採取、³H-thymidine 取込みを液体シンチレーションカウンタで 1 分間 (cpm) 計測した。なお、非刺激 (spontaneous) 対照としては mitogen 非添加試料を同一条件で培養、測定した。

NK 細胞活性の測定¹⁸⁾：PBMC を攻撃細胞、K 562 細胞¹⁹⁾ (human myeloid cell line, Pittsburgh Cancer Inst., USA, R.B. Herberman 博士より供与) を標的細胞とする ⁵¹Cr 遊離法による。K 562 細胞は 10^6 個を 10% 牛胎児血清含有 RPMI-1640 培養液 1ml に浮遊、Na₂⁵¹CrO₄ 100 μ Ci を添加、37°C、1 時間標識、RPMI-1640 培養液で 3 回洗浄後、 2×10^5 個を同液 1ml に浮遊、その 50 μ l ずつを 96 穴丸底プレートに分注した。PBMC は 4×10^6 個を RPMI-1640 培養液 1ml に浮遊、その 50 μ l を前記プレートに加え、攻撃：標的細胞比を 20:1 とした。同プレートにはさらに血清分画としてヒト AB 型血清 (ただし抗体陰性健康人由来) または被検者自己血漿 20% 含有 RPMI-1640 培養液 100 μ l を追加、5% 炭酸ガス加湿環境で 37°C、6 時間培養した。培養終了時に培養上清 100 μ l を遠心採取、ガンマカウンターにより放射活性 1 分値 (cpm) を計測、次式により細胞障害率を算出、NK 細胞活性とした。

細胞障害率 (%)

$$= \frac{\text{実験 } ^{51}\text{Cr 遊離 (cpm)} - \text{自然 } ^{51}\text{Cr 遊離 (cpm)}}{\text{最大 } ^{51}\text{Cr 遊離 (cpm)} - \text{自然 } ^{51}\text{Cr 遊離 (cpm)}} \times 100$$

ちなみに自然 ⁵¹Cr 遊離は PBMC 非添加での値、また最大 ⁵¹Cr 遊離は標的 K 562 細胞凍結融解 3 回後の値である。

ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) の測定²⁰⁾：HTLV-I 産生 MT-2 細胞を標的細胞とする ⁵¹Cr 遊離法による。標的細胞の標識、攻

撃: 標的細胞比, 培養時間, 細胞障害率の算出は NK 細胞活性測定法に準じた. 抗体源としては ATL 患者血漿ならびに抗体陽性健常人血漿を, また対照として抗体陰性健常人血漿ならびに牛胎児血清をそれぞれ最終濃度6.25%に添加した.

吸収試験^{20) 21)}: ADCC に関与する抗体の特異性を検索する為, 256 倍希釈した ATL 患者血漿, および抗体陽性健常人血漿 1ml を 10^8 個あるいは 3×10^7 個の各種培養細胞と混合, 室温30分, さらに 4°C , 30分, 5分毎に攪拌しながら反応, 吸収を行なった. 残存抗体活性は MT-2 細胞を標的細胞, 抗体陰性健常人 PBMC を攻撃細胞とし, ^{51}Cr 遊離法で測定した. 吸収には HTLV-I 産生ヒト T 細胞として MT-2, HUT-102 (B2 clone)^{22) 23)}, ならびに Strain A 細胞²⁴⁾, また HTLV-I 非産生ヒト細胞として T 細胞白血病・リンパ腫細胞株 HUT-78²²⁾, HUT-102 細胞を得た同一患者から樹立された HTLV-I 未感染 B 細胞株 Rob-B²³⁾, Burkitt リンパ腫患者より樹立された Raji 細胞, および K562 細胞を用いた. 動物 retrovirus 産生細胞としては, 手長猿白血病ウイルス産生手長猿肉腫細胞 UCD-144, およびマウス白血病ウイルス (Gross マウス白血病ウイルス野生株) 産生マウス白血病細胞株 EL-4 を用いた. なお, HUT-102 (B2 clone), HUT-78, Rob-B 細胞は R.C. Gallo 博士 (NIH, USA) より, Strain A, UCD-144 細胞は R.C. Ting 博士 (Biotech Res. Lab., USA) より, Raji 細胞は鈴木利光博士, また EL-4 細胞は浜田忠弥博士 (ともに新潟大学医学部) より供与を受けた.

Leu 7 陽性細胞の除去: ADCC における攻撃細胞種確認の為, Leu 7 抗原陽性細胞の除去を試みた. 抗体陰性健常人 PBMC 6×10^6 個を 10% 牛胎児血清含有 RPMI-1640 培養液 0.75ml に浮遊, Leu 7 マウス単クローン抗体 (Becton Dickinson Monoclonal Center Inc., CA, USA) 12.5 μl を添加, 室温15分反応, さらに補体としてウサギ血清 0.25ml を添加, 37°C , 30分反応させた. 細胞は RPMI-1640 培養液で3回洗浄後, trypanblue 排除法にて生細胞数を計測, 4×10^6 個を同液 1ml に浮遊, 以下 ADCC 測定法に準じ細胞障害活性を測定した. なお, Leu 7 抗体試料中の NaN_3 は細胞障害反応阻害作用を示す²⁵⁾ので, RPMI-1640 培養液に対し 4°C , 一夜透析, 除去した.

プラスチック皿付着性ならびに非付着性細胞の分離: 付着性ならびに非付着性細胞による ADCC 効果を検索する為, PBMC, 4×10^6 個を10%牛胎児血清含有 RPMI

-1640 培養液 1ml に浮遊, プラスチック皿にて 37°C , 1時間培養, 浮遊細胞を非付着性 PBMC とし, 付着性細胞はラバーポリスマンを用い回収した. 各細胞ADCC活性の測定は前記によった.

補体依存性細胞障害 (complement-dependent cytotoxicity, CDC): 抗体として患者血漿ならびに抗体陽性健常人血漿, 陽性対照として HTLV-I 関連抗原に対するマウス単クローン抗体, 陰性対照として抗体陰性健常人血漿を用い, MT-2 細胞, ならびに患者末梢血より分離した新鮮 ATL 細胞を標的細胞とする trypanblue 排除法によった. 標的細胞 10^6 個を10%牛胎児血清含有 RPMI-1640 培養液 1ml に浮遊, その 25 μl をガラス試験管に分注, 抗体試料 25 μl , 補体 (2倍希釈ウサギ血清) 50 μl を添加, 37°C , 1時間反応, 反応終了後, 氷冷した 0.5% trypanblue 液 25 μl を加え死細胞を計測, 細胞障害率 (%) を求めた. なお, 抗体試料としてヒト血漿は4倍希釈, マウス単クローン抗体は500倍希釈で用いた.

マウス単クローン抗体: HTLV-I 産生細胞特異的単クローン抗体²⁶⁾は R.C. Ting 博士 (Biotech Res. Lab.) より供与を受けた. ちなみに, 同抗体は HTLV-I 非産生細胞, および HTLV-I とは反応しない.

有意差検定: 有意差検定は Student t-test 法によった.

結 果

HTLV-I 抗体: ATL 患者11名 (男子6名, 女子5名) を検索, IFM, ELISA 両法により全例に HTLV-I 抗体を検出した (表1). 患者家族では検索し得た38名中18名 (47.4%) に同抗体を検出した. そのうち, IFM, ELISA 両法ともに抗体陽性の者13名 (34.2%), IFM 法で陽性, ELISA 法で陰性の者5名 (13.2%) であり, ELISA 法のみで陽性の者は認められなかった. 男女別では男子20名のうち IFM, ELISA 両法とも抗体陽性の者4名 (20.0%), IFM 法のみ陽性の者2名 (10.0%), また女子18名ではそれぞれ9名 (50.0%) および3名 (16.7%) であり, 女性に有意に ($p < 0.05$, χ^2 検定) 高率の抗体保有を認めた. 血縁者と同居者 (夫婦) の抗体保有率はそれぞれ46.8%, および50.0%で両者間に有意差は認められなかった.

以下の記載では IFM, ELISA 両法ともに抗体陽性の患者家族ならびに非血縁健常人を抗体陽性健常人, また両法ともに抗体陰性の患者家族ならびに非血縁健常人を抗体陰性健常人と規定した.

表 1 ATL 患者ならびに患者家族における男女別抗体保有者数および保有率

血 漿 由 来		HTLV-I 抗 体								男 女 別 合 計
		IFM ELISA	法陽性 法陽性	IFM ELISA	法陽性 法陰性	IFM ELISA	法陰性 法陽性	IFM ELISA	法陰性 法陰性	
ATL 患者	男 性	6 (100) ^(a)	0	0	0	0	0	0	6 (100)	
	女 性	5 (100)	0	0	0	0	0	0	5 (100)	
	男女合計	11 (100)	0	0	0	0	0	0	11 (100)	
患者家族(血縁者)	男 性	4 (23.5)	1 (5.9)	0	12 (70.6)	0	0	0	17 (100)	
	女 性	8 (53.5)	2 (13.3)	0	5 (33.3)	0	0	0	15 (100)	
	男女合計	12 (37.5)	3 (9.4)	0	17 (53.1)	0	0	0	32 (100)	
同居者(夫婦)	男 性	0	1 (33.3)	0	2 (66.7)	0	0	0	3 (100)	
	女 性	1 (33.3)	1 (33.3)	0	1 (33.3)	0	0	0	3 (100)	
	男女合計	1 (16.7)	2 (33.3)	0	3 (50.0)	0	0	0	6 (100)	
家 族 合 計	男 性	4 (20.0)	2 (10.0)	0	14 (70.0)	0	0	0	20 (100)	
	女 性	9 (50.0)	3 (16.7)	0	6 (33.3)	0	0	0	18 (100)	
	男女合計	13 (34.2)	5 (13.2)	0	20 (52.6)	0	0	0	38 (100)	

(a) カッコ内は男女別合計人数に対する百分率

各種 mitogen 刺激に対する PBMC の応答能(表 2): PHA 刺激効果は 3 日間培養によった. 同培養期間で刺激効果が極値域に達することによる. 抗体陰性健康人 PBMC の ³H-thymidine 取込みは PHA 添加により非添加対照 cpm 値 109 ± 64 より 17,716 ± 5,391 に上昇, 著明な応答を示した (p < 0.001). 抗体陽性健康人 PBMC のそれも 1,095 ± 775 より 15,630 ± 4,281 に有意 (p < 0.001), かつ明確に上昇した. これに対し, ATL 患者 PBMC では PHA 非添加対照値 5,679 ± 5,699, 添加実験値 5,883 ± 4,776 であり, PHA 刺激に対する有意応答は認められなかった. Con A ならびに SPL 刺激効果の検索は 5 日間培養によった. 当実験でも抗体陰性健康人 PBMC の cpm 値は 101 ± 128 より 12,890 ± 4,511/Con A (p < 0.001), 16,138 ± 5,153/SPL (p < 0.001) に, また抗体陽性健康人 PBMC も 2,943 ± 1,837 より 13,318 ± 7,225/Con A (p < 0.01), 13,645 ± 4,713/SPL (p < 0.001) にそれぞれ上昇, 両 mitogen 刺激に対しともに有意に応答したが, ATL 患者では 6,920 ± 6,946 より 5,195 ± 3,601/Con A, および 6,067 ± 5,564/SPL と有意応答は認められなかった. 抗体陽性, 陰性両健康人 PBMC は mitogen 刺激に対しともに有意, かつ著明に応答したが, 前者 PBMC は mitogen 非添加状態でも効率良く ³H-thymidine を取込む. Mitogen 添加時の取込み値より非添加時のそれを

差引き, 内実応答値として両群 PBMC の mitogen 刺激応答能を比較した. PHA ならびに Con A に対しては両群 PBMC の内実応答値に有意差は認められなかったが, SPL に対しては抗体陰性健康人 PBMC の内実応答値 16,037 ± 5,149 に比べ抗体陽性健康人 PBMC のそれは 10,703 ± 4,330 と有意に (p < 0.01) 低値であった.

PBMC の NK 細胞活性(表 2): 細胞障害率によるとき, 抗体陰性健康人 PBMC の NK 細胞活性は 57.7 ± 17.5%, 抗体陽性健康人のそれは 48.4 ± 22.0% であり, 両者の間に有意差は認められなかった. これに対し, ATL 患者 PBMC の NK 細胞活性は 11.5 ± 10.7% と抗体陰性健康人のそれに比べ有意 (p < 0.001), かつ明らかな低値を示した. また, 自己血漿添加による測定でもこの結果は変らなかつた.

HTLV-I 産生 MT-2 細胞に対する ADCC(表 3): 抗体陰性健康人 PBMC による MT-2 細胞障害率は ATL 患者血漿添加群で 38.0 ± 16.5% (p < 0.001), 抗体陽性健康人血漿添加群で 54.2 ± 13.3% (p < 0.001), また, 抗体陽性健康人 PBMC による障害率はそれぞれ 28.7 ± 14.4% (p < 0.05) および 37.9 ± 19.4% (p < 0.01) であり, 抗体活性を含まない対照血漿添加群に比べともに有意, かつ明確な ADCC の発効が認められた. これに対し, ATL 患者 PBMC による MT-2 細

表2 ATL患者, 抗体陽性および陰性健常人 PBMC の mitogen 応答能, ならびに NK細胞活性

測定項目	PBMC 由来(人数)		
	ATL患者 (n=8)	抗体陽性健常人 (n=9)	抗体陰性健常人 (n=51)
Mitogen 刺激応答能 (³ H-thymidine 取込み, cpm±SD)			
(1) PHA 刺激 (3日間培養)	5,883±4,776	15,630±4,281** ^(a)	17,716±5,391**
(2) 非刺激 (spontaneous)	5,679±5,699	1,095±775	109±64
(1)-(2) (内実応答値)	204±3,836*** ^(b)	14,035±4,245	17,607±5,306
(3) Con A 刺激 (5日間培養)	5,195±3,601	13,318±7,225*	12,890±4,511**
(4) 非刺激 (spontaneous)	6,920±6,946	2,943±1,837	101±128
(3)-(4) (内実応答値)	-1,724±5,765***	10,375±8,266	12,789±4,489
(5) SPL 刺激 (5日間培養)	6,067±5,564	13,645±4,713**	16,138±5,153**
(5)-(4) (内実応答値)	-853±2,727***	10,703±4,330*	16,037±5,149
NK 細胞活性 (細胞障害率, %±SD)			
ヒト AB 型血清添加群	11.5±10.7**	48.4±22.0	57.7±17.5
自己血漿添加群	10.5±12.2***	47.2±24.4	60.6±18.1

(a) Mitogen 刺激効果の有意差検定は, mitogen 添加実験群と非添加対照群との間で行なった (* p<0.01, ** p<0.001).

(b) Mitogen 刺激に対する内実応答値, ならびに NK 細胞活性の有意差検定は, 抗体陰性健常人 PBMC の値に対して行なった (* p<0.01, *** p<0.001).

表3 ATL患者, 抗体陽性および抗体陰性健常人 PBMC による MT-2 細胞に対する ADCC

抗体由来	PBMC 由来(人数)		
	ATL患者	抗体陽性健常人	抗体陰性健常人
ATL患者血漿	1.9±1.3 ^(a) (n=4)	28.7±14.4* ^(b) (n=4)	38.0±16.5*** ^(c) (n=11)
抗体陽性健常人血漿	5.8 (n=2)	37.9±19.4** ^(b) (n=5)	54.2±13.3*** ^(c) (n=11)
抗体陰性健常人血漿	1.1±3.1 (n=4)	4.8 (n=2)	3.4±4.2* (n=14)
牛胎児血清	3.1±1.3 (n=3)	2.3±5.2 (n=5)	1.9±3.1 (n=13)

(a) 細胞障害率, %±SD.

(b) 牛胎児血清添加実験値に対する有意差を検定した (* p<0.05, ** p<0.01).

(c) 抗体陰性血漿添加実験値, ならびに牛胎児血清添加実験値に対する有意差を検定した (***) 両実験値に対しても p<0.001).

細胞障害率は ATL 患者血漿添加群で 1.9±1.3%, 抗体陽性健常人血漿添加群で 5.8% と陰性対照値のレベルに止り, 同細胞による有意の ADCC 発効は認められなかった. ちなみに, 本反応に関する抗体活性は ATL 患者血漿のそれが抗体陽性健常人血漿のそれより有意 (p<0.05) に低値を示した.

吸収操作による HTLV-I 抗体活性の減弱: MT-2 細胞を標的とする ADCC に関する抗体の特異性を

各種培養細胞を用いた吸収試験で検索した(表4). 抗体陽性健常人血漿 1ml 当り 10⁸ 個の HTLV-I 産生 MT-2 細胞による吸収の結果, 細胞障害率は未吸収血漿添加実験値 31.1% より 2.2% に著しく低下した. 同様に HUT-102 (B2 clone) により 4.1%, また Strain A 細胞では 1.8% といずれも著明に低下, ADCC に関する抗体は 3 種の HTLV-I 産生細胞とともに有意に吸収された. これに対し, 対照として用いた HTLV-I

表 4 吸 収 試 験

細胞由来	細胞障害率 (%) ^(a)	
	吸収細胞数	
	10 ⁸ /ml	3×10 ⁷ /ml
未吸収対照	31.1	
HTLV-I 産生ヒト T 細胞		
MT-2	2.2	14.6
HUT-102 (B2 clone)	4.1	8.5
Strain A	1.8	1.2
HTLV-I 非産生ヒト細胞		
HUT-78 (T 細胞)	26.9	24.3
Rob-B (B 細胞)	28.7	23.4
Raji (Burkitt リンパ腫)	ND	24.7
K562 (骨髄性白血病)	ND	27.4
動物 retrovirus 産生動物細胞		
UCD-144 (手長猿)	ND	26.1
EL-4 (マウス)	26.5	30.1

ND: not done.

(a) 吸収後の残存抗体活性は、MT-2 細胞を標的細胞、抗体陰性健常人 PBMC を攻撃細胞とする ⁵¹Cr 遊離法により duplicate で測定した。

表 5 HTLV-I 産生細胞に対する
ADCC の effector 細胞

Effector 細胞	前処理	細胞障害率 (%±SE) ^(a)
Exp. 1 PBMC	未処理対照	48.1 ± 1.5
	Leu 7 抗体	45.4 ± 1.2
	ウサギ補体	40.0 ± 2.3
	Leu 7 抗体 + 補体	16.8 ± 1.1*
Exp. 2	プラスチック皿非付着性 PBMC	77.5
	同付着性 PBMC	5.6

(a) MT-2 細胞を標的細胞とする ⁵¹Cr 遊離法により、Exp. 1 は triplicate, Exp. 2 は duplicate で測定した (* p<0.001)。

非産生ヒト細胞である HUT-78 細胞, Rob-B 細胞, Raji 細胞, K562 細胞, および動物 retrovirus 産生細胞である手長猿 retrovirus 産生 UCD-144 細胞, マウス retrovirus 産生 EL-4 細胞による吸収試験では細胞障害率は未吸収対照値レベルに止り, 有意の吸収効果は認められなかった。同様の結果は ATL 患者血漿についても認められた。

表 6 HTLV-I 産生 MT-2 細胞, ならびに
新鮮 ATL 細胞に対する CDC^(a)

抗体由来	細胞障害率 (%)	
	MT-2 細胞	新鮮 ATL 細胞
ATL 患者血漿	50.5	3.5
抗体陽性健常人血漿	68.6	2.1
抗体陰性健常人血漿	19.4	2.3
HL-3 単クローン抗体	97.6	4.9
HD-13 単クローン抗体	99.0	9.2
補体対照	17.5	5.1

(a) ウサギ補体 (1:4) を用い, trypanblue 排除法により duplicate で測定した。

ADCC の effector 細胞: ADCC による標的細胞の障害率は PBMC の Leu 7 抗体・補体処理により未処理対照値 48.1±1.5% から 16.8±1.1% に有意に (p<0.001) 低下した (表 5, Exp. 1)。PBMC をプラスチック皿付着性により非付着性細胞分画ならびに付着性細胞分画に分離, ADCC 活性を検索した (表 5, Exp. 2)。ADCC 活性は非付着性細胞分画にのみ (細胞障害率 77.5%) 検出された。

HTLV-I 産生細胞に対する CDC: HTLV-I 産生 MT-2 細胞を標的細胞とするとき, その細胞障害率は ATL 患者血漿で 50.5%, 抗体陽性健常人血漿で 68.6% であり, 補体対照値 17.5% に較べこれら両血漿については同等, かつ明確な障害活性を認めた。これに対し, 抗体陰性健常人血漿では 19.4% と補体対照レベルに止った。障害効果は MT-2 細胞の HTLV-I 関連抗原を標的とする抗体活性に基づくと解される。ちなみに, HTLV-I 関連抗原に対する 2 種の単クローン抗体, HL-3 および HD-13 による MT-2 細胞障害率はそれぞれ 97.6% および 99.0% と著明であった。また, HTLV-I 非産生の新鮮 ATL 細胞はいずれの抗体試料によっても障害されず, 本反応が HTLV-I 関連抗原を標的抗原として発効するとの前記の見解を裏付けた。

考 察

ATL は HTLV-I を起因源とするが, HTLV-I 感染は必ずしも ATL 発症を意味しない。本研究では ATL 発症規定要因として免疫系の関与を想定, 患者ならびに抗体陽性健常人の免疫機能を, 非特異的機能の指標として mitogen 刺激応答能および NK 細胞活性, 特異的機能の指標として HTLV-I 産生細胞に対する

ADCC および CDC を検索，抗体陰性健常人のそれらと比較検討した。

Mitogen 刺激応答能は ATL 患者において著しく低下していた。また，抗体陽性健常人 PBMC では SPL 刺激応答能減弱が認められた。Mitogen 刺激リンパ球幼若化反応は抗原刺激による反応に類似し，T 細胞を主体とする細胞性免疫能を反映する指標の1つと考えられている。上記の結果は ATL 患者における同機能の低下を示唆する。ちなみに，本反応を用いた免疫能検索は固型癌患者において詳細に検討されており，当該反応は癌が進行するにつれて低下し，また末期患者では手術不能症例の方が可能症例よりも低いと報告されている^{27) 28)}。一方，白血病患者における同反応の低下は急性および慢性骨髄性白血病 (AML および CML)，ならびに急性リンパ性白血病 (ALL) の増悪期に認められるが²⁹⁾，同患者末梢血中の白血病細胞数との相関はない (未発表知見)。正常細胞の機能低下を示唆する。今回の検索では末梢血中に ATL 細胞の少ない，いわゆる「くすぶり型 ATL」³⁰⁾ 患者の mitogen 刺激応答能も低下しており，ATL においても正常形態を具えた細胞の機能低下が示唆される。細胞性免疫機能を知る他の方法としては精製ツベルクリン蛋白質を用いた皮内反応が汎用される。同反応が ATL 患者では陰性化すると報告があり³¹⁾，また今回検索し得た患者でも陰性であることは mitogen 刺激応答能の低下とともに患者における T 細胞を主体とする細胞性免疫機能低下状態を示唆する。

注目すべきは ATL 患者 PBMC，ならびに抗体陽性健常人 PBMC において mitogen 非刺激状態 (spontaneous) で ³H-thymidine 取込みの著しい上昇が認められた点である。その機序としては以下の可能性が考えられる。(a)，抗体非存在下での PBMC 培養により ATL 細胞あるいは T 細胞で HTLV-I および同関連抗原が発現，抗原刺激を与える。培養により ATL 細胞^{32) 33)} ならびに健常人 T 細胞^{9) 12)} に抗原発現を認めることについてはすでに報告がある。(b)，生体内で HTLV-I 抗原刺激によりすでに対応リンパ球の活性が惹起されている。(c)，患者試料では ATL 細胞の増殖能亢進に基づく。(d)，抗体陽性健常人試料では形態変化を伴わない腫瘍細胞が存在，増殖能が亢進している。ちなみに細胞増殖の亢進機能については HTLV-I 構成遺伝子である long terminal repeat (LTR) あるいは同ウイルス群特有の pX 領域³²⁾ の遺伝子産物により内因性増殖性因子の産生が誘発されるとの仮説がある。

このことに関連して，抗体陰性健常人 PBMC に75%の濃度に抗体陽性血漿を添加，mitogen 非存在下で5日間培養すると，抗体陰性健常人血漿添加対照値 95 ± 50 cpm に比べ ATL 患者血漿添加実験値 226 ± 210 cpm と ³H-thymidine 取込みの上昇がみられた (未発表知見)。実際，株化された HTLV-I および HTLV-II 産生細胞が granulocyte-macrophage colony stimulating factor, erythroid potentiating factor, あるいは interleukin-2 を産生するとの報告がある^{33) 34) 35) 36)}。これらの知見は ATL 患者血中の増殖促進因子の存在を示唆する。しかし，今回見出された mitogen 非刺激状態 (spontaneous) での ³H-thymidine 取込み上昇がいずれの機序に基づくかは未知である。³H-thymidine 取込み亢進を示す細胞種の同定が機序解明に手掛りを与えるのではないかと考える。

NK 活性の大部分は大型顆粒リンパ球が担っている³⁷⁾。同細胞は Fc 受容体を保有，Leu 7 単クローン抗体を用いた表面抗原解析より ADCC における effector 細胞の1つである K 細胞と同一細胞群であると考えられている³⁸⁾。本研究の ADCC による HTLV-I 産生細胞障害の effector 細胞も Leu 7 陽性であり，K 細胞と思われる。ATL 患者においては NK・K 両細胞活性ともに著しく低下していた。抗体陽性健常人の NK・K 細胞活性も同様に低下の傾向がみられた。患者における同活性低下は1つには ATL 細胞増加に伴い NK・K 細胞数が相対的に減少する為と考えられる。PBMC の Leu 7 陽性細胞率を検索し得た患者では同細胞数の減少が認められたことによる。しかし，末梢白血球数が正常域であり，ATL 細胞の増加していない症例，また「くすぶり型 ATL」症例では Leu 7 陽性細胞が20.8%と正常域であるにもかかわらず NK・K 細胞活性低下がみられることより，他の要因に基づく細胞自体の活性低下も考えられる。ちなみに，AML，ALL 患者の増悪期に NK 細胞活性の低下がみられるが²⁹⁾，末梢血中の白血病細胞の増加と NK 細胞活性との間に相関はみられない (未発表知見)。

ATL 患者における NK・K 細胞活性低下については ATL 発症要因の1つとする考えと ATL 発症の帰結との考えがある。前者の可能性を示唆する知見として以下の報告がある。先天的に NK・K 細胞活性欠損を伴う Chédiak-東症候群^{39) 40) 41)} において，感染死を免がれた症例の85%以上が悪性リンパ腫様病変を呈し死亡する⁴²⁾。前白血病状態にある患者では NK 細胞活性が低下している^{43) 44)}。移植腫瘍に対する抵抗性は同個体の

NK 細胞活性と正の相関を示す^{45) 46)}。T 細胞機能を欠損するが NK 細胞活性の高い nude マウスでは自然発癌率が低い⁴⁷⁾。アシアロ GM1 抗体を用いて NK 細胞活性を抑制した nude マウス、ならびに Chédiak-東症候群の動物モデルである beige マウス^{48) 49)}で移植腫瘍の増殖・転移が早い^{50) 51) 52)}。一方、後者の可能性を示唆する知見としては、AML ならびに CML 患者では NK 細胞の低下が認められるが、完全寛解した例 (AML) では同活性が回復している⁵³⁾。また筆者らも AML や CML に加え ALL でも同様の知見を得ている²⁹⁾。固型癌患者の血中免疫抑制物質により NK・K 細胞活性が抑制される⁵⁴⁾。ATL の場合、両者の可能性のいずれかは不明である。継時的に NK 細胞活性を測定し得た ATL 患者で部分寛解期に同活性が正常域に回復することを認めた症例がある。本症例では NK 細胞の活性低下は ATL 発症の帰結と推察される。本現象の機序解析には抗体陽性健常人、特に患者家族の NK・K 細胞活性の長期にわたる検索が必要と考える。

ウイルス感染防御における NK・K 細胞の関与についてはインフルエンザ・ウイルス^{55) 56)}、リンパ球性脈絡髄膜ウイルス⁵⁷⁾、サイトメガロ・ウイルス^{58) 59) 60)}、麻疹ウイルス⁶¹⁾、単純ヘルペス・ウイルス^{62) 63)}、ムンプス・ウイルス⁶⁴⁾ Semliki Forest ウイルス⁶⁵⁾ 等についての報告がある。HTLV-I に関しても今回の検索結果より ADCC に基く HTLV-I 産生細胞の障害が認められ、effector 細胞は K 細胞であること、また、抗体源としては抗体陽性健常人血中抗体のみならず患者抗体も同効果を有することが判明した。これらの知見は HTLV-I 感染防御での K 細胞の関与を示唆する。

なお、今回検索し得なかったが、細胞障害性 T 細胞による HTLV-I 産生細胞障害が ATL 発症抑制的に働く可能性のあることを指摘しておく。すなわち、寛解期の ATL 患者 PBMC と凍結保存した自己 ATL 細胞との混合培養、ならびに抗体陰性健常人 PBMC と HTLV-I 感染自己リンパ球との混合培養により細胞障害性 T 細胞が誘導・活性化されると報告⁶⁶⁾があることによる。

HTLV-I 抗体の抗原特異性に関し、現在までの報告では HTLV-I および同ウイルス産生細胞破碎抗原との免疫沈降法ならびに Western blot 分析法の結果より、ATL 患者血中抗体の抗原特異性は抗体陽性健常人抗体のそれと差異はないとされている^{67) 68)}。今回の検索でも両者抗体はともに HTLV-I 産生細胞に対する

ADCC ならびに CDC を惹起、吸収試験の結果より ADCC の標的抗原は HTLV-I 関連抗原と考えられた。すなわち、ATL 患者では HTLV-I 抗体産生能ならびに抗体の特異性に欠損はなく、他の要因により ATL 発症を来すと考えられる。

ATL 患者では血中抗体陽性にもかかわらず ATL 細胞が存在するが、同細胞は HTLV-I 抗原陰性である。この説明としては当初 HTLV-I に感染・腫瘍化した ATL 細胞は抗原陽性であり抗体産生を誘導するが、ADCC ならびに CDC に基き排除、または抗原変調を受け、抗原陰性細胞のみが残存すると考えることができる。なお、抗原変調はマウス TL 白血病の TL 抗原、およびヒト ALL の ALL 抗原で報告があるが、機序の詳細は不明である^{69) 70) 71)}。

本研究では ATL 発症規定要因の一端として免疫系の関与を想定、患者、抗体陽性健常人、ならびに抗体陰性健常人の 3 群につき各種の免疫反応を比較、患者および抗体陽性健常人の 2 群において PBMC における mitogen 応答能、ならびに NK・K 細胞性の低下あるいは低下の傾向を認めた。ATL は T リンパ球特定サブセット (helper-inducer) の無制限増殖がその第一義的病変と解されている。T リンパ球はそれ自体異変細胞の排除に従事すると同時に、各種免疫反応を制御することから、免疫中枢の一端としても位置付けられている。この様な観点から本報告の ATL 患者ならびに抗体陽性健常人に検出された免疫機能の低下を疾患の誘因とするか、帰結とするかの判断は慎重でなければならない。逆に、当該知見を足掛りとして ATL 発症機序の解明に有益な示唆の得られる可能性もある。今回の結果を基盤とし、これら両観点をふまえた今後の総合的な検索が ATL 病態のより深い理解につながるものと考えらる。

結 語

ATL 患者ならびに抗体陽性健常人の免疫機能を抗体陰性健常人と比較、以下の結果を得た。

a) 各種 mitogen 刺激応答能は患者 PBMC で著明に低下していた。これに対し、抗体陽性健常人 PBMC では SPL 刺激応答能の低下をみたものの、PHA, Con A 刺激応答能は正常であった。

b) Mitogen 非刺激状態 (spontaneous) の ³H-thymidine 取込みの著しい上昇が、患者ならびに抗体陽性健常人 PBMC に認められた。

c) NK 細胞活性は患者 PBMC で低下していた。

これに対し、抗体陽性健常人 PBMC の同活性は正常であった。

d) HTLV-I 産生細胞に対し ADCC に基づく細胞障害反応が認められ、K 細胞が effector 細胞と考えられた。患者の同活性は著しく低下していたが、抗体陽性健常人のそれは正常であった。

e) 患者ならびに抗体陽性健常人血中抗体はともに HTLV-I 産生細胞に対する ADCC および CDC を惹起した。

以上の知見から、ATL 患者は細胞性免疫ならびに NK・K 細胞の機能低下状態にあると結論された。

謝 辞

御指導いただきました浜田忠弥博士（新潟大学医学部ウイルス学教室教授）、ならびに青木忠夫博士（信楽園病院研究部長）に深く感謝申し上げます。また培養細胞および単クローン抗体を供与していただいた R.C. Gallo 博士 (NIH, USA), R.C. Ting 博士 (Biotech Res. Lab., USA), R.B. Herberman 博士 (Pittsburgh Cancer Inst., USA), 三好勇夫博士 (高知医科大学), 鈴木利光博士 (新潟大学医学部), 研究を進めるに当り助力いただいた小出裕子, 田村和枝, 本間幸子各氏に謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) Poiesz, B.J., Ruscetti, F.W., Gazdar, A.F., Bunn, P.A., Minna, J.D. and Gallo, R.C.: Detection and isolation of type-C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **77**: 7415~7419, 1980.
- 2) Hinuma, Y., Nagata, K., Hanaoka, M., Nakai, M., Matsumoto, T., Kinoshita, K., Shirakawa, S. and Miyoshi, I.: Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **78**: 6476~6480, 1981.
- 3) Hinuma, Y., Gotoh, Y., Sugamura, K., Nagata, K., Goto, T., Nakai, M., Kamada, N., Matsumoto, T. and Kinoshita, K.: A retrovirus associated with human adult T-cell leukemia: *in vitro* activation. Gann, **73**: 341~344, 1982.
- 4) Akagi, T., Ohtsuki, Y., Takahashi, K., Kubonishi, I. and Miyoshi, I.: Detection of type C virus particles in short-term cultured adult T cell leukemia cells. Lab. Invest., **47**: 406~408, 1982.
- 5) Yoshida, M., Seiki, M., Yamaguchi, K. and Takatsuki, K.: Monoclonal integration of human T-cell leukemia provirus in all primary tumors of adult T-cell leukemia suggests causative role of human T-cell leukemia virus in the diseases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **81**: 2534~2537, 1984.
- 6) Yamamoto, N., Schneider, J., Koyanagi, Y., Hinuma, Y. and Hunsmann, G.: Adult T-cell leukemia (ATL) virus-specific antibodies in ATL patients and healthy virus carriers. Int. J. Cancer, **32**: 281~287, 1983.
- 7) Catovsky, D., Greaves, M.F., Rose, M., Galton, D.A.G., Goolden, A.W.G., McCluskey, D.R., White, J.M., Lampert, I., Bourikas, G., Ireland, R., Brownell, A.I., Bridges, J.M., Blattner, W.A. and Gallo, R.C.: Adult T-cell lymphoma-leukemia in blacks from the West Indies. Lancet, **I**: 639~643, 1982.
- 8) Hunsmann, G., Schneider, J., Schmitt, J. and Yamamoto, N.: Detection of serum antibodies to adult T-cell leukemia virus in non-human primates and in people from Africa. Int. J. Cancer, **32**: 329~332, 1983.
- 9) Gotoh, Y., Sugamura, K. and Hinuma, Y.: Healthy carriers of a human retrovirus, adult T-cell leukemia virus (ATLV): demonstration by clonal culture of ATLV-carrying T cells from peripheral blood. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **79**: 4780~4782, 1982.
- 10) Tajima, K., Tominaga, S., Suchi, T., Kawagoe, T., Komoda, H., Hinuma, Y., Oda, T. and Fujita, K.: Epidemiological analysis of the distribution of antibody to adult T-cell leukemia-virus-associated antigen; possible horizontal transmission of adult T-cell leukemia virus. Gann, **73**: 893~901, 1982.
- 11) Kondo, T., Nonaka, H., Miyamoto, N., Yoshida, R., Matsue, Y., Ohguchi, Y., Inoue, H., Komoda,

- H., Hinuma, Y. and Hanaoka, M.: Incidence of adult T-cell leukemia-lymphoma and its familial clustering. *Int. J. Cancer*, **35**: 749~751, 1985.
- 12) Miyoshi, I., Taguchi, H., Fujishita, M., Niiya, K., Kitagawa, T., Ohtsuki, Y. and Akagi, T.: Asymptomatic type C virus carriers in the family of an adult T-cell leukemia patients. *Gann*, **73**:339~340, 1982.
- 13) Böyum, A.: Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **21**: Suppl. 97, 1968.
- 14) Aoki, T., Miyakoshi, H., Koide, H., Yoshida, T., Ishikawa, H., Sugisaki, Y., Mizukoshi, M., Tamura, K., Misawa, H., Hamada, C., Ting, R.C., Robert-Guroff, M. and Gallo, R.C.: Seroepidemiology of human T-lymphotropic retrovirus type I (HTLV-I) in residents of Niigata Prefecture, Japan; comparative studies by indirect immunofluorescence microscopy and enzyme-linked immunosorbent assay. *Int. J. Cancer*, **35**: 301~306, 1985.
- 15) Miyoshi, I., Kubonishi, I., Yoshimoto, S., Akagi, T., Ohtsuki, Y., Shiraishi, Y., Nagata, K. and Hinuma, Y.: Type-C virus particles in a cord T-cell line derived by cocultivating normal human cord leukocytes and human leukemic T cells. *Nature*, **294**: 770~771, 1981.
- 16) Miyakoshi, H., Aoki, T. and Hirasawa, Y.: Effects of serum and plasma from hemodialysis patients on the lymphoproliferative response. *Clin. Nephrol.*, **12**: 263~268, 1979.
- 17) Miyakoshi, H., Aoki, T. and Mizukoshi, M.: Mitogenic substances in staphage lysate. *Biomed. Res.*, **2**: 629~638, 1981.
- 18) Miyakoshi, H., Aoki, T. and Mizukoshi, M.: Acting mechanisms of Lentinan in human. II. Enhancement of non-specific cell-mediated cytotoxicity as an interferon inducer. *Int. J. Immunopharmac.*, **6**: 373~379, 1984.
- 19) Lozzio, C.B. and Lozzio, B.B.: Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome. *Blood*, **45**: 321~334, 1975.
- 20) Miyakoshi, H., Koide, H. and Aoki, T.: *In vitro* antibody-dependent cellular cytotoxicity against human T-cell leukemia/lymphoma virus (HTLV)-producing cells. *Int. J. Cancer*, **33**: 287~291, 1984.
- 21) Herlyn, D.M. and Koprowski, H.: Monoclonal anticolon carcinoma antibodies in complement-dependent cytotoxicity. *Int. J. Cancer*, **27**: 769~774, 1981.
- 22) Gazdar, A.F., Carney, D.N., Bunn, P.A., Russell, E.F., Jaffe, E.S., Schecter, G.P. and Guccion, G.: Mitogen requirements for *in vitro* propagation of cutaneous T-cell lymphomas. *Blood*, **55**: 409~417, 1980.
- 23) Gallo, R.C., Mann, D., Broder, S., Ruscetti, F.W., Maeda, M., Kalyanaraman, V.S., Robert-Guroff, M. and Reitz, M.S. Jr.: Human T-cell leukemia-lymphoma virus (HTLV) is in T but not B lymphocytes from a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **79**: 5680~5683, 1982.
- 24) Popovic, M.: (私信). Strain A 細胞は, HTLV-I 産生 MJ 細胞と臍帯血リンパ球との混合培養により樹立された HTLV-I 産生細胞株である.
- 25) Roder, J.C., Kiessling, R., Biberfeld, P. and Anderson, B.: Target-effector interaction in the natural killer (NK) cell system. II. The isolation of NK cells and studies on the mechanism of killing. *J. Immunol.*, **121**: 2509~2517, 1978.
- 26) Bodner, A.J., Corrigan, A.J., Aoki, T. and Ting, R.C.: Isolation of monoclonal antibodies which react with HTLV proteins and with HTLV-producing cells. In: T. Aoki, I. Urushizaki and E. Tsubura (Eds.). *The 5th Symposium on Manipulation of Host Defence Mechanisms. Excerpta Medica, Amsterdam*, 194~200, 1983.
- 27) Ducos, J., Miguères, J., Colombies, P., Kessous, A. and Poujoulet, N.: Lymphocyte response to PHA in patients with lung cancer. *Lancet*, **I**: 1111~1112, 1970.
- 28) Orita, K., Miwa, H., Shinoda, K. and Tanaka, S.: Suppressed blastformation of lymphocyte

- in cancer bearing patients, with special reference to the cancers of digestive tract. *Acta Med. Okayama*, **27**: 37~41, 1973.
- 29) **Aoki, T., Shibata, A., Aoyagi, Y. and Miyakoshi, H.**: Immune status in leukemia patients. In: D.S. Yohn and J.R. Blakeslee (Eds.). *Advances in Comparative Leukemia Research 1981*. Elsevier Biomedical, New York, Amsterdam, Oxford, 547~549, 1982.
- 30) **Yamaguchi, K., Nishimura, H., Kohroggi, H., Jono, M., Miyamoto, Y. and Takatsuki, K.**: A proposal for smoldering adult T-cell leukemia: a clinicopathologic study of five cases. *Blood*, **62**: 758~766, 1983.
- 31) 田口博国, 新谷憲治, 依光幸夫, 町田健一, 吉本静雄, 高岡道夫, 塩見文俊, 上田尚紀: 四国南部でみられた成人 T 細胞性白血病の 7 例. *臨床血液*, **21**: 80~85, 1980.
- 32) **Seiki, M., Hattori, S., Hirayama, Y. and Yoshida, M.**: Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**: 3618~3622, 1983.
- 33) **Lusis, A.J., Quon, D.H. and Golde, D.W.**: Purification and characterization of a human T-lymphocyte-derived granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, **57**: 13~21, 1981.
- 34) **Golde, D.W., Bersch, N., Quan, S.G. and Lusis, A.J.**: Production of erythroid-potentiating activity by a human T-lymphoblast cell line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**: 593~596, 1980.
- 35) **Tarella, C., Ruscetti, F.W., Poiesz, B.J., Woods, A. and Gallo, R.C.**: Factors that affect human hemopoiesis are produced by T-cell growth factor dependent and independent cultured T-cell leukemia-lymphoma cells. *Blood*, **59**: 1330~1336, 1982.
- 36) **Gootenberg, J.E., Ruscetti, F.W., Mier, J.W., Gazdar, A. and Gallo, R.C.**: Human cutaneous T cell lymphoma and leukemia cell lines produce and respond to T cell growth factor. *J. Exp. Med.*, **154**: 1403~1418, 1981.
- 37) **Timonen, T., Saksela, E., Ranki, A-M., Hayry, P.**: Fractionation, morphological and functional characterization of effector cells responsible for human natural killer activity against cell-line targets. *Cell. Immunol.*, **48**: 133~148, 1979.
- 38) **Abo, T., Cooper, M.D. and Balch, C.M.**: Post-natal expansion of the natural killer and killer cell population in humans identified by the monoclonal HNK-1 antibody. *J. Exp. Med.*, **155**: 321~326, 1982.
- 39) **Roder, J.C., Haliotis, T., Klein, M., Korec, S., Jett, J.R., Ortaldo, J., Herberman, R.B., Katz, P. and Fauci, A.S.**: A new immunodeficiency disorder in humans involving NK cells. *Nature*, **284**: 553~555, 1980.
- 40) **Haliotis, T., Roder, J., Klein, M., Ortaldo, J., Fauci, A.S. and Herberman, R.B.**: Chédiak-Higashi gene in humans. I. Impairment of natural-killer function. *J. Exp. Med.*, **151**: 1039~1048, 1980.
- 41) **Klein, M., Roder, J., Haliotis, T., Korec, S., Jett, J.R., Herberman, R.B., Katz, P. and Fauci, A.S.**: Chédiak-Higashi gene in humans. II. The selectivity of the defect in natural-killer and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity function. *J. Exp. Med.*, **151**: 1049~1058, 1980.
- 42) **Dent, P.B., Fish, L.A., White, J.G. and Good, R.A.**: Chédiak-Higashi syndrome. Observation on the nature of the associated malignancy. *Lab. Invest.*, **15**: 1634~1642, 1966.
- 43) **Takaku, S. and Takaku, F.**: Natural killer cell activity and preleukemia. *Lancet*, **II**, 1178, 1981.
- 44) **Porzolt, F. and Heimpel, H.**: Impaired T-cell and NK-cell function in patients with preleukemia. *Blut*, **45**: 243~248, 1982.
- 45) **Kiessling, R., Petranyi, G., Klein, G. and Wigzell, H.**: Genetic variation of *in vitro* cytolytic activity and *in vivo* rejection potential of non-immunized semi-syngeneic mice against a mouse lymphoma line. *Int. J. Cancer*, **15**: 933~940, 1975.
- 46) **Kiessling, R. and Wigzell, H.**: An analysis of the murine NK cell as to structure, function

- and biological relevance. *Immunol. Rev.*, **44**: 165~208, 1979.
- 47) **Rygaard, J. and Povlsen, C.O.**: The mouse mutant nude does not develop spontaneous tumours. *Acta Path. Microbiol. Scand. Section B.* **82**: 99~106, 1974.
- 48) **Windhorst, D.B. and Padgett, G.J.**: The Chédiak-Higashi syndrome and the homologous trait in animals. *Invest. Dermatol.*, **60**: 529~537, 1973.
- 49) **Roder, J.C. and Duwe, A.K.**: The beige mutation in the mouse selectively impairs natural killer cell function. *Nature*, **278**: 451~453, 1979.
- 50) **Talmadge, J.E., Meyers, K.M., Prieur, D.J. and Starkey, J.R.**: Role of NK cells in tumour growth and metastasis in *beige* mice. *Nature*, **284**: 622~624, 1980.
- 51) **Kärre, K., Klein, G.O., Kiessling, R., Klein, G. and Roder, J.C.**: Low natural *in vivo* resistance to syngeneic leukaemias in natural killer-deficient mice. *Nature*, **284**: 624~626, 1980.
- 52) **Habu, S., Fukui, H., Shimamura, K., Kasai, M., Nagai, Y., Okumura, K. and Tamaoki, N.**: *In vivo* effects of anti-asialo GM1. I. Reduction of NK activity and enhancement of transplanted tumor growth in nude mice. *J. Immunol.*, **127**: 34~38, 1981.
- 53) **Lotzova, E., McCredie, K.B., Maroun, J.A., Dicke, K.A. and Freireich, E.J.**: Some studies on natural killer cells in man. *Transplant. Proc.*, **11**: 1390~1292, 1979.
- 54) 仙場敬三, 池田 晃, 佐藤鉄典, 文屋 学, 近江直仁, 石谷邦彦, 漆崎一朗: 担癌宿主血清中に存在する NK 活性抑制因子の分析. 第40回日本癌学会総会記事, p. 115, 1981.
- 55) **Ennis, F.A., Meager, A., Beare, A.S., Yi-Hua, Q., Riley, D., Schwarz, G., Schild, G.C. and Rook, A.H.**: Interferon induction and increased natural killer-cell activity in influenza infections in man. *Lancet*, **II**, 891~893, 1981.
- 56) **Santoli, D., Trinchieri, G. and Koprowski, H.**: Cell-mediated cytotoxicity against virus-infected target cells in humans. II. Interferon induction and activation of natural killer cells. *J. Immunol.*, **121**: 532~538, 1978.
- 57) **Welsh, R.M.**: Cytotoxic cells induced during lymphocytic choriomeningitis virus infection of mice. I. Characterization of natural killer cell induction. *J. Exp. Med.*, **148**: 163~181, 1978.
- 58) **Shellam, G.R., Grundy (Chalmer), J.E. and Allan, J.E.**: The role of natural killer cells and interferon in resistance to murine cytomegalovirus. In: R.B. Herberman (Ed.). *NK Cells and Other Natural Effector Cells*. Academic Press, New York, 1451~1458, 1982.
- 59) **Bancroft, G.J., Shellam, G.R. and Chalmer, J.E.**: Genetic influences on the augmentation of natural killer (NK) cells during murine cytomegalovirus infection: correlation with patterns of resistance. *J. Immunol.*, **126**: 988~994, 1981.
- 60) **Shellam, G.R., Allan, J.E., Papadimitriou, J.M. and Bancroft, G.J.**: Increased susceptibility to cytomegalovirus infection in beige mutant mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**: 5104~5108, 1981.
- 61) **Ault, K.A. and Weiner, H.L.**: Natural killing of measles-infected cells by human lymphocytes. *J. Immunol.*, **122**: 2611~2616, 1979.
- 62) **Shore, S.L., Melewicz, F.M. and Gordon, D.S.**: The mononuclear cell in human blood which mediates antibody-dependent cellular cytotoxicity to virus-infected target cells. I. Identification of the population of effector cells. *J. Immunol.*, **118**: 558~566, 1977.
- 63) **Rager-Zisman, B. and Allison, A.C.**: Mechanism of immunologic resistance to herpes simplex virus I (HSV-I) infection. *J. Immunol.*, **116**: 35~40, 1976.
- 64) **Andersson, T., Stejskal, V. and Härfast, B.**: An *in vitro* method for study of human lymphocyte cytotoxicity against mumps-virus-infected target cells. *J. Immunol.*, **114**: 237~243, 1975.
- 65) **Macfarlam, R.I., Burns, W.H. and White, D.O.**: Two cytotoxic cells in peritoneal cavity of virus-infected mice: antibody-dependent macr-

- ophages and nonspecific killer cells. *J. Immunol.*, **119**: 1569~1574, 1977.
- 66) **Kannagi, M., Sugamura, K., Sato, H., Okochi, K., Uchino, H. and Hinuma, Y.**: Establishment of human cytotoxic T cell lines specific for human adult T cell leukemia virus-bearing cells. *J. Immunol.*, **130**: 2942~2946, 1983.
- 67) **Schupbach, J., Kalyanaraman, V.S., Sarngadharan, M.G., Nakao, Y., Ito, Y. and Gallo, R.C.**: Antibodies against three purified structural proteins of the human type-C retrovirus, HTLV, in Japanese adult T-cell leukemia patients, healthy family members, and unrelated normals. *Int. J. Cancer*, **32**: 583~590, 1983.
- 68) **Yamamoto, N. and Hinuma, Y.**: Antigens in an adult T-cell leukemia virus-producer cell line: reactivity with human serum antibodies. *Int. J. Cancer*, **30**: 289~293, 1982.
- 69) **Boyse, E.A., Old, L.J. and Luell, S.**: Antigenic properties of experimental leukemias. II. Immunological studies *in vivo* with C57BL/6 radiation-induced leukemias. *J. Natl. Cancer Inst.*, **31**: 987~995, 1963.
- 70) **Boyse, E.A., Stockert, E. and Old, L.J.**: Modification of the antigenic structure of the cell membrane by thymus-leukemia (TL) antibody. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **58**: 954~957, 1967.
- 71) **Ritz, J., Pesando, J.M., Notis-McConarty, J. and Schlossman, S.F.**: Modulation of human acute lymphoblastic leukemia antigen induced by monoclonal antibody *in vitro*. *J. Immunol.*, **125**: 1506~1514, 1980.

(昭和61年1月13日受付)
