臍帯血T細胞サブセットの機能的特異性-2-PWMにより活性化された臍帯血T細胞サブセットにおけるIa様抗原の発現能

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9012

金沢大学十全医学会雑誌　第91巻　第5号　828－835　(1982)

臍帯血T細胞サブセットの機能的特異性

〔II〕 PWMにより活性化された臍帯血T細胞サブセットにおけるIa様抗原の発現能

金沢大学医学部小児科学教室（主任：谷口　昂教授）

谷内江　昭　宏

(昭和57年9月27日受付)

種々の年令の小児の末梢血T細胞におけるIa様抗原の発現を，モノクロナール抗体OKIa 1を用いて間接螢光抗体法にて検定した．休止状態のT細胞，あるいはPWMを添加せずに培養したT細胞では，表面Ia様抗原発現率は5％以下であった．成人末梢血T細胞を至適濃度のPWMを加え8日間培養すると，^{3}H－TdRの摂取率や顕微鏡下の観察で芽球化が確認され，またその約40％が表面にIa様抗原を発現した．Percoll濃度勾配法によりこれらの培養T細胞を比重の異なる2つの分画に分けると，Ia様抗原が主としてPWM刺激により芽球化した大型細胞に発現されていることが明らかとなった．これに対して臍帯血T細胞は，PWM刺激に反応して芽球化，あるいは増殖反応を起こすことが^{3}H－TdRの取り込みや，形態学的観察により確認されたが，Ia様抗原の発現は極めて少なかった．T細胞のIa様抗原発現能は年令と共に増加し，3才以降にはほぼ成人と同様となった．末梢血T細胞をモノクローナル抗体OKT 4，OKT 8と補体を用いた細胞融解により2つの異なるサブセットに単離した．成人末梢血T細胞では，OKT 4^{+}細胞のみが芽球化を起こし表面にIa様抗原を発現した．PWM刺激培養後のT細胞をさらにこれらのモノクロール抗体と補体で処理し，Ia様抗原の発現を再検討した．未分画培養T細胞をOKT 4と補体で処理すると，Ia様抗原陽性細胞の比率は著しく低下したが，OKT 8と補体で処理してもこのような変化は認められなかった．以上の結果より成人末梢血T細胞のうち，OKT 4^{+}細胞のみがPWM刺激によるIa様抗原発現能を有することが示唆された．また，臍帯血T細胞サブセットの分布や，これらのサブセットのB細胞の免疫グロブリン産生細胞への分化に及ぼす調節に関する〔I〕編の報告を考え合わせると，臍帯血T細胞におけるIa様抗原発現能の低下は臍帯血OKT 4^{+}細胞の機能的特異性と深くかかわっていると考えられた．これらをさらに明らかにするためにはIa様抗原，あるいはIa様抗原陽性T細胞の果す役割についてさらに検討が必要であると考える．

Key words　臍帯血リンパ球，T細胞サブセット，Ia様抗原

マウスの主要組織適合遺伝子複合体（以下MHC）であるH－2複合体は，移殖免疫において重要な役割を果すことが知られている[1]．このH－2複合体のなかで，特にI領域の遺伝子産物であるI領域関連抗原（以下Ia抗原）は混合リンパ球反応や，免疫応答でのT細胞，B細胞及び単球間の細胞相互作用を制御する上で重要な働きをなすことが明らかとなってきた。一方，ヒトのMHCであるHLA（human leukocyte antigen）に含まれるHLA－DRはマウスのI領域に，またその遺伝子産物であるHLA－DR抗原はマウスのIa抗原に対応すると考えられている[2]．HLA－DR抗原はマウスのIa抗原との類似性よりIa様抗原と呼ばれる．Ia様抗原は主としてヒトB細胞表面に存在するが，単球の多くやその他の細胞表面にも発現されていることが知られている．

ヒト末梢血T細胞は，その殆んどは細胞表面にIa様抗原を有しないが，in vitroでは種々の刺激下で培養するとその表面にIa様抗原の発現が認められるように

Functional Characteristics of Cord Blood T Cell Subsets. 〔II〕 Expression Ability of Ia-like Antigens on T Cell Subsets in Human Cord Blood on Pokeweed Mitogen Stimulation. **Akihiro Yachie,** Department of Pediatrics (Director: Prof. N. Taniguchi), School of Medicine, Kanazawa University.

なることが知られている[3)~9)]．またin vivoにおいても，伝染性単核症，悪性腫瘍などの種々の疾患に伴い，末梢血中にIa様抗原陽性T細胞が出現することが知られており[10)11)]，また移植拒否反応[12)]，破傷風トキソイドなどによる抗原刺激[13)]などの後にもIa様抗原がT細胞上に発現されることが明らかとなっている．

ここでは，臍帯血，成人末梢血及び種々の年令の小児の末梢血T細胞をPWM刺激下で培養し，そのIa様抗原の発現様式，及び各年令によるIa様抗原の発現能について比較検討した。

対象および方法

I．対象および末梢単核球の分離

〔I〕編で述べたと同様，臍帯血，成人及び種々の年令の小児の末梢静脈血をヘパリン加採血し，Ficoll-Hypaque比重遠心法により末梢単核球を分離した．

II．T細胞分画の単離

〔I〕編で述べた如く，2回Eロゼット法により末梢単核球からT細胞分画を単離し，これをT細胞として以下の実験に供した．

III．モノクローナル抗体により識別されるT細胞サブセットの単離

〔I〕編で述べた方法に従い，OKTシリーズモノクローナル抗体と補体を用い細胞融解により互いに相反するサブセットを除去，$OKT\,4^+$細胞及び$OKT\,8^+$細胞を得た．

IV．Ia様抗原陽性細胞の検定

Ia様抗原陽性細胞の検定は，OKTシリーズモノクローナル抗体OKIa 1を用い，〔I〕編で述べた方法に従い，間接螢光抗体法により行った．

V．細胞培養

PWM刺激下での培養T細胞のIa様抗原発現能を検討する為，以下の方法で細胞培養を施行した．培養液は10%ヒトAB型血清の他に，L-グルタミン(0.3 mg/ml)，ペニシリン(200 U/ml)及びゲンタマイシン(10 μg/ml)を含むRPMI 1640培地を用いた．Eロゼット法により分離したT細胞1×10^6を培養液1 mlに浮遊し，種々の濃度のPWM(1 μl/ml～100 μl/ml)を添加し，炭酸ガス培養恒温器内で37°C，5%CO_2存在下で培養した．培養開始より3，6，8及び10日後に細胞を回収し，Ia様抗原陽性細胞の比率を検定した．

VI．Percoll比重遠心法による培養細胞の回収

培養したT細胞浮遊液を30%Percoll (Pharmacia Fine Chemicals) に重層，450 G，10分間遠心し，上層の死細胞を除去した．中間の生細胞を採取しPBSにて洗浄，以下の検定に用いた．またPWM 25 μl/ml存在下で8日間培養したT細胞はKurnickらの方法[14)]に従い，Percoll濃度勾配法によって異なる比重を有する複数の細胞分画に分けた．すなわち，Percollを30%(比重1.043)～60%(比重1.077)の範囲で10%ずつ濃度の異なる4層に重層し，この上に培養T細胞浮遊液をさらに重層，450 G 10分間遠心した．得られた細胞分画の形態を顕微鏡下で検討した．比重1.056～1.067の細胞分画では，その85～92%が芽球様の大きな細胞であり，比重1.067～1.077の細胞分画では芽球様細胞は6～15%のみであった．また比重1.043以下の分画では，トリパン青を用いた検定により85%以上が死細胞と考えられた．

VII．PWM刺激下でのT細胞幼若化反応の検討

PWM刺激下でのT細胞，あるいはT細胞サブセットの幼若化反応を^{3}H-thymidine (^{3}H-thymine desoxy-riboside：以下^{3}H-TdR)の取り込みにより検討した．T細胞，$OKT\,4^+$細胞，あるいは$OKT\,8^+$細胞1×10^5を培養液0.2 mlに浮遊し，PWM 25 μl/mlを加えミクロウェル (No. 3042, Falcon) にて培養した．培養終了24時間前に，各ウェルに0.2 μCiの^{3}H-TdRを加え，semiautomatic multiple sample precipitatorを用い培養細胞をWhatmannろ紙上に回収した．ろ紙を乾燥後，シンチレーション液(PPO 4 g+POPOP 50 mg/Lトルエン) 2 mlに溶解させ，液体シンチレーションカウンターにて，細胞内に取り込まれた^{3}H-TdRの放射活性を測定し，cpmで表わした．

成　　績

I．PWM刺激によるT細胞のIa様抗原の発現

種々の濃度のPWM (1 μl/ml～100 μl/ml) を加え，成人末梢血及び臍帯血T細胞を培養し，8日後に回収，Ia様抗原陽性細胞の比率を求めた．PWMを加えない場合には，成人末梢血T細胞，臍帯血T細胞共にIa様抗原陽性細胞の比率は5%以下であった．PWM刺激下で8日間の培養後，成人末梢血T細胞では加えたPWMの濃度に応じてIa様抗原の発現を認め，PWM 25 μl/mlを添加して培養した時，Ia様抗原陽性細胞の比率は最高(48.6±4.6%)となった．しかし臍帯血T細胞では添加したPWMの濃度にかかわらず，Ia様抗原の発現は極めて少なかった（表1）．

II．PWM刺激下でのT細胞Ia様抗原の発現，及びT細胞幼若化反応の経時的変動

成人末梢血及び臍帯血T細胞を，PWM 25 μl/ml存在下で培養し，3，5，8及び10日後に細胞を回収し，Ia様抗原の発現を検討した．またT細胞の幼若化反応を，培養開始3，5および7日後に^{3}H-TdRの取り込みにより検定した．成人末梢血T細胞では，幼若化反応はIa様抗原の発現に先立って培養開始3日後より認

められ，5日後には最大となった．Ia様抗原の発現は培養開始6日後より認められ，8日後に最大となった（図1 A）．臍帯血T細胞では，幼若化反応は成人末梢血T細胞と同様，あるいはそれ以上に著明に認められたが，Ia様抗原の発現は培養期間を通じて極めて少なかった（図1 B）．以上，PWM刺激下でのT細胞のIa様抗原の発現は，PWM 25 μl/mlを加え，8日間培養した時に最大となることが明らかとなった．したがって以下の実験では全て，PWM 25 μl/ml存在下でT細胞を培養し，8日後に細胞を回収しIa様抗原の発現を検討した．

III. 年令によるIa様抗原発現能の変化

Table 1. Expression of Ia-like antigens on T cells from adult peripheral or cord blood after stimulation with various doses of PWM.*

Concentration of PWM (μl/ml)	% Cells Expressing Ia-like Antigens	
	Adults	Cord blood
0	3.2±3.0	2.4±1.4
1	20.2±8.8	2.7±2.0
5	35.5±13.5	3.1±2.6
25	48.6±4.6	3.2±2.1
100	22.5±9.2	1.3±0.5

* T cells isolated from adults or cord blood were cultured at 1×10^6/ml in the culture media at various concentrations (1 to 100 μl/ml) of PWM. After 8 days of culture, cells were harvested, washed and incubated with a monoclonal OKIal antibody to human Ia-like antigens, and the percentage of positive cells in cultured T cells was determined by indirect immuno-fluorescence with G/M FITC under a fluorescence microscope. Data represent the mean (±SD) of 5 separate experiments.

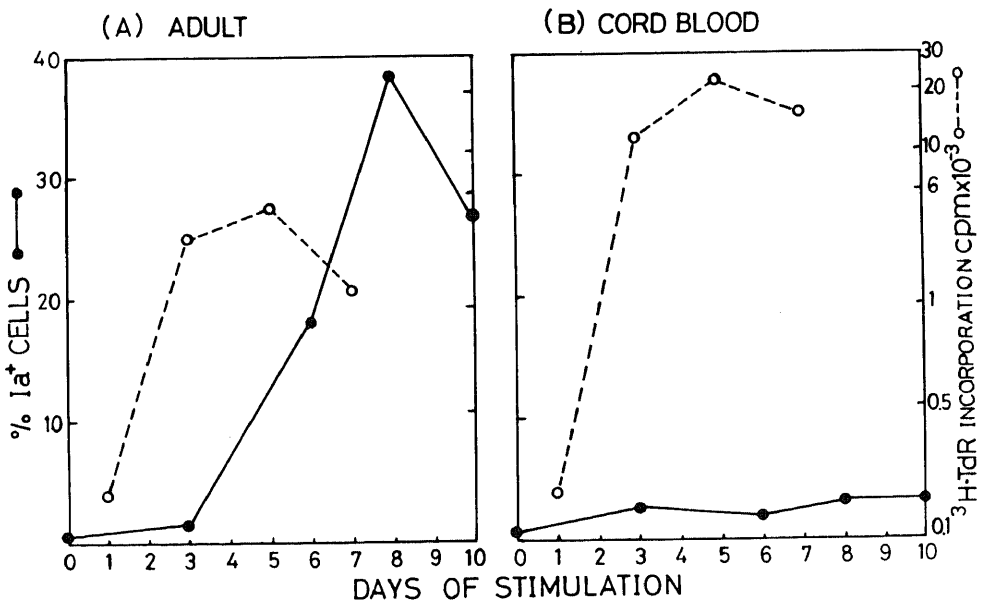

Figure 1. Kinetics of the proliferative response and percentage expression of Ia-like antigens on T cells after stimulation with PWM. T cells (1×10^6/ml) from adult (A) or cord blood (B) were cultured in the presence of PWM (25μl/ml), and the determination of Ia-positive cells was performed by indirect immunofluorescence with OKIal and G/M FITC. The proliferative response of T cells to PWM was tested in microculture plates containing 1×10^5 cells, and ^{3}H-TdR incorporation was determined 24 hours after pulsing each well with 0.2 μCi of ^{3}H - TdR.

種々の年令の小児の末梢血T細胞の，PWM刺激によるIa様抗原発現能を比較検討した．臍帯血ではIa様抗原の発現は5%以下であったが，年令と共に増加し，3～7歳では成人とほぼ同様のIa様抗原陽性細胞の出現を認めた（表2）．

IV. 比重の異なる培養T細胞によるIa様抗原発現の差

Percoll濃度勾配法により，培養T細胞を異なる比重を有する分画に分け，それぞれの分画のIa様抗原陽性細胞の比率を検定した．比重1.056～1.067の分画では，85～92%が芽球様の大型細胞であり，比重1.067～1.077の分画では6～15%のみが芽球様細胞であった．前者を芽球様細胞分画，後者を非芽球様細胞分画とした．それぞれの分画についてEロゼット形成能の検定を施行したが，共に殆んどがEロゼット形成細胞より成ると考えられた．またこれら2つの分画について，Ia様抗原陽性細胞の比率検討した．成人末梢血T細胞では未分画培養T細胞のIa様抗原陽性率が35.0±8.5%であるのに対して，芽球様細胞分画では68.5±4.9%と有意に高く，逆に非芽球様細胞分画では12.0±4.2%と著しい低値を示した．一方，臍帯血T細胞ではいずれの分画においても，Ia様抗原陽性細胞の比率は5%以下であった．したがって，成人末梢血培養T細胞のIa様抗原発現は，その殆んどが芽球様変化を示している細胞の表面に認められるものと考えられた（表3）．

V. T細胞サブセットとIa様抗原発現能

OKTシリーズモノクローナル抗体を用いてT細胞を2つの異なるサブセット，すなわちOKT 4^+細胞とOKT 8^+細胞に単離，それぞれのサブセットのIa様抗原発現能と，^{3}H-TdRの取り込みにより幼若化反応を検討した．成人末梢血T細胞では，OKT 4^+細胞にのみ

Table 2. Developmental changes in the expression of Ia-like antigen on PWM-stimulated T cells[a]

Age of Donor	No. of Donors	% Ia^+ Cells	p Values[b]
Cord blood	11	3.6±1.2[c]	< 0.001
1–6 months	6	8.9±4.4	< 0.001
7–12 months	9	12.1±5.7	< 0.001
2 years	5	23.4±7.4	< 0.001
3–7 years	9	40.1±15.9	NS[d]
Adults	16	42.4±8.6	

[a] T cells isolated from children of various ages were cultured in the presence of PWM (25 μl/ml) for 8 days. After culture, cells were harvested, and tested for the expression of Ia-like antigens.
[b] P values were obtained by Student's *t*-test compared with adult values.
[c] Mean±SD.
[d] NS, not significant.

Table 3. Expression of Ia-like antigens on PWM-stimulated T cells separated by Percoll density gradient[a]

Density (g/ml)	Blastoid Cells (%)	Adults		Cord blood	
		Ia^+ Cells(%)	ERFC(%)[b]	Ia^+ Cells(%)	ERFC(%)
Unfractionated	ND[c]	35.0±8.5[d]	ND	2.4±1.1	ND
1.056–1.067	85–92	68.5±4.9	92.5±2.1	4.0±2.3	91.4±1.9
1.067–1.077	6–15	12.0±4.2	95.0±2.1	4.0±1.1	88.7±3.6

[a] T cells from adults or cord blood were cultured for 8 days in the presence of PWM(25μl/ml). Cultured T cells were separated into 2 cell fractions on a discontinuous gradient of Percoll. The percentage of Ia-positive cells was determined by indirect immunofluorescence with OKIa1 and G/M FITC. Blastoid cells were assessed by stained morphology.
[b] ERFC, E rosette-forming cells. ERFC was evaluated by rosette formation with neuraminidase-treated sheep erythrocytes.
[c] ND, not done.
[d] Mean±SD of 3 separate experiments.

著明な^{3}H - TdR の取り込みが認められ，OKT 8$^+$細胞は極めて低い反応性しか示さなかった．また臍帯血T細胞でも，OKT 4$^+$細胞は成人に匹敵する，あるいはそれ以上の^{3}H - TdR の取り込みが認められ，OKT 8$^+$細胞は極めて低い^{3}H - TdR 摂取率を示した．Ia 様抗原は成人末梢血 T 細胞では，OKT 4$^+$細胞に多く発現されていたが（57.8±6.0%），OKT 8$^+$細胞の Ia 様抗原陽性率は 5%以下であった．また臍帯血 T 細胞では，いずれのサブセットでも Ia 様抗原の発現は極めて低かった．以上，成人末梢血 T 細胞における PWM 刺激による Ia 様抗原の発現は，その多くが幼若化した OKT 4$^+$細胞において認められることが明らかとなった．また臍帯血 T 細胞には成人末梢血 T 細胞と同様，PWM 刺激による幼若化反応は認められるが，Ia 様抗原の発現能は極めて低いと考えられた（表4）．

VI. 培養T細胞のモノクロナール抗体処理による Ia 様抗原発現の変化

培養T細胞上に発現する Ia 様抗原の殆んどが OKT 4$^+$細胞の膜表面に発現していることを確認する為，培養T細胞をモノクロナール抗体 OKT 4 あるいは OKT 8 と補体を用いて処理，相当するサブセットを除去した後，Ia 様抗原の発現を検討した．OKT 4 と補体により処理し，培養T細胞から OKT 4$^+$細胞を除去すると，Ia 様抗原陽性細胞の比率は著しく低下した．しかし，OKT 8 を用いて同様の処理を行っても，Ia 様抗原陽性細胞の比率は低下せず，むしろやや上昇した（表5）．

考 察

PWM 刺激による T 細胞表面上の Ia 様抗原の発現様式を検討した．種々の濃度の PWM 刺激下で末梢血T細胞を 8 日間培養し，表面 Ia 様抗原をモノクロナール抗体 OKIa 1 を用い，間接螢光抗体法により検定した．成人末梢血T細胞では，添加した PWM の濃度が高くなるにつれて Ia 様抗原陽性細胞の比率は増加し，25μl/ml で最大となった．しかし臍帯血T細胞では，PWM の濃度にかかわらず Ia 様抗原の発現は極めて少なかっ

Table 4. Expession of Ia-like antigens and proliferative response of T cell subsets defined with monoclonal antibodies after stimulation with PWM.

T Cells	Adults		Cord blood	
	Ia$^+$ Cells[a] (%)	^{3}H-TdR Incorporation (net cpm/10^5)[b]	Ia$^+$ Cells (%)	^{3}H-TdR Incorporation (net cpm/10^5)
Unfractionated	39.5±3.2[c]	4,678±1,309	3.3±2.4	20,400±8,849
OKT4$^+$	57.8±6.0	12,441±1,604	3.4±1.2	38,975±7,023
OKT8$^+$	4.9±3.9	1,915±1,651	2.5±2.3	4,206±1,340

[a] T cell subsets from abult or cord blood were isolated by using monoclonal OKT4 and OKT8 antibodies. T cell subsets were cultured for 8 days in the presence of PWM (25μl/ml), and tested for the expression of Ia-like antigens.
[b] ^{3}H-thymidine (^{3}H-thymine desoxy-riboside : ^{3}H-TdR) incorporation was determined 24 hours after pulsing each culture with 0.2 μCi of ^{3}H-TdR. Cell cultures were performed in microculture plates with PWM (25μl/ml) and harvested on day 5 of culture.
[c] Results are expressed as mean±SD 5 separate experiments.

Table 5. Effect of treatment with OKT4 or OKT8 plus complement (C) on the expression of Ia-like antigens of PWM-stimulated adult T cells[a]

Treatment	% Cells Expressing Ia-like Antigens	
	Exp. 1	Exp. 2
Untreated	33	41
OKT4+C	5	8
OKT8+C	44	56

[a] Unfractionated adult T cells were cultured for 8 days in the presense of PWM (25μl/ml). The treatment of the cultured T cells with monoclonal antibodies, OKT4 or OKT8, and C was performed according to the method for isolation of T cell subsets defined with these monoclonal antibodies. After the treatment, cells were washed and provided for enumeration of Ia-positve cells.

た．次に培養T細胞のIa様抗原の発現と，幼若化反応を経時的に検討した．^{3}H－TdRの取り込みは，成人末梢血，臍帯血T細胞ともに培養開始3日後より認められ，5日後に最大となった．成人末梢血T細胞のIa様抗原の発現は，培養開始6日後より認められ，8日後には最大となったが，臍帯血では経過を通じてIa様抗原の発現は極めて低かった．

種々の年令における末梢血T細胞のIa様抗原発現能を検討した．PWM 25μl/ml存在下で8日間培養後，細胞表面のIa様抗原の発現を検討した．臍帯血T細胞ではIa様抗原陽性細胞は5％以下であったが，年令と共に増加，3～7才ではほぼ成人と同様にIa様抗原陽性細胞の出現を認めた．

Percoll濃度勾配法を用いて培養T細胞を比重の異なる複数の分画に分け，その形態とIa様抗原の発現を検討した．その結果，Ia様抗原陽性細胞の多くは比重1.056～1.067の分画に属する，芽球様の大型細胞であることが明らかとなった．さらにモノクロナール抗体で識別されるT細胞サブセットのIa様抗原発現とその幼若化反応を検討したが，成人末梢血T細胞の内，主としてOKT 4$^+$細胞がPWM刺激に反応して幼若化し，その表面にIa様抗原を発現するものと考えられた．

著者らはT細胞に発現されるIa様抗原の果す役割を明らかにする為，PWM刺激下で培養した成人末梢血OKT 4$^+$細胞をIa様抗原陽性細胞（以下Ia$^+$OKT 4$^+$細胞）及びIa様抗原陰性細胞（以下Ia$^-$OKT 4$^+$細胞）の異なるサブポピュレーションに単離し，それぞれがPWM刺激下でのB細胞分化に及ぼす影響を検討した．その結果，B細胞のIg－PCへの分化に対して，Ia$^+$OKT 4$^+$細胞，Ia$^-$OKT 4$^+$細胞のいずれもヘルパー作用を有するが，OKT 8$^+$細胞によるB細胞分化抑制効果の発現は，Ia$^+$OKT 4$^+$細胞によってのみ誘導されることが明らかとなった[15]．またReinherzら[16]は，破傷風トキソイドによりOKT 4$^+$細胞にのみIa様抗原が発現することを見出し，OKT 4$^+$細胞の中にIa様抗原の発現に関して異なるサブポピュレーションが存在する可能性があるとした．彼らはさらに，これらのサブポピュレーションの機能を検討し，Ia$^+$OKT 4$^+$細胞にのみ，非特異的ヘルパー因子を産生する能力があるが，B細胞のIg－PCへの分化は，両方のサブポピュレーションが存在した時に最も強く誘導されたと報告している[17]．Reinherzらはまた，低ガンマグロブリン血症の一例を報告し，患者末梢血中のT細胞，およびOKT 4$^+$細胞が正常数あるにもかかわらず，これらの細胞がin vitroでの破傷風トキソイドあるいはPWM刺激によりIa様抗原の発現を認めなかったという興味深い事実を述べている[18]．以上により，Ia様抗原の発現とT細胞，特にOKT 4$^+$細胞の機能との相関が強く示唆された．また著者は［I］編で，臍帯血OKT 4$^+$細胞が成人末梢血OKT 4$^+$細胞とは機能的に異なることを明らかにしており，臍帯血T細胞サブセットのIa様抗原発現能の低下は，このような臍帯血T細胞サブセットの機能的特異性と深くかかわっていることがうかがわれた．

結　　論

1．成人末梢血T細胞をPWM刺激下で培養すると，その細胞表面にIa様抗原の発現を認めた．Ia様抗原の発現は，PWM 25μl/mlを添加し8日間培養した時最大となった．一方，臍帯血T細胞の培養ではIa様抗原の発現は殆んど認められなかった．

2．各年令の小児の末梢血T細胞の，PWM刺激によるIa様抗原発現能を検討した．臍帯血T細胞のIa様抗原の発現は5％以下であったが，年令と共に徐々に増加し，3～7才でほぼ成人と同様になった．

3．培養によりIa様抗原を発現するT細胞は比重1.056～1.067の分画に属する芽球様大型細胞で，その殆んどはOKT 4$^+$細胞であると考えられた．

以上，PWM刺激によりT細胞表面に発現するIa様抗原は，臍帯血では極めて少なく，成人末梢血では幼若化したOKT 4$^+$細胞に多く認められた．これらのことは，免疫応答におけるIa様抗原の役割と，臍帯血T細胞サブセットの機能的特異性を知る上で重要な知見であると考えらたた．

謝　　辞

稿を終えるにあたり，御指導と御校閲を賜わりました恩師谷口昻教授に深謝致します．また直接御指導頂きました宮脇利男先生はじめ，終始研究に御協力頂きました小児科第二研究室の諸兄，ならびに教室員の皆様に感謝致します．最後に，快く臍帯血を御提供下さいました金沢聖霊病院産科，大下陸郎先生に深謝致します．

なお，本論文の要旨は，第11回日本免疫学会総会(1981)において発表した．

References［II］

1) **McDevitt, H. O., Delovitch, T. L., Press, J. L. & Murphy, D. B.**: Genetic and functional analysis of the Ia antigens: Their possible role in regulating the immune response. Transplant. Rev., **30**, 197－235 (1976).

2) **Winchester, R. J. & Kunkel, H. G.**: The human Ia system. Adv. Immunol., **28**, 221－292 (1979).

3) **Altevogt, P., Fohlman, J., Kurnick, J. T., Peterson, P. & Wigzell, H.**: Biochemical com-

parison of HLA-DR molecules derived from autologous human T and B lymphoblasts. Eur. J. Immunol., **10**, 908-914 (1980).

4) **Ceuppens, J. L., Goodwin, J. S. & Searles, R. P.**: The presence of Ia antigen on human peripheral blood T cells and T-cell subsets: Analysis with monoclonal antibodies and the fluorescence-activated cell sorter. Cell. Immunol., **64**, 277-292 (1981).

5) **Greaves, M. F., Verbi, W., Festenstein, H., Papaseriadis, C., Jaraquemada, D. & Hayward, A.**: "Ia-like" antigens on human T cells. Eur. J. Immunol., **9**, 356-362 (1979).

6) **Evans, R. L., Faldetta, T. J., Humphreys, R. E., Pratt, D. M., Yunis, E. J. & Schlossman, S. F.**: Peripheral human T cells sensitized in mixed leukocyte culture synthesize and express Ia-like antigens. J. Exp. Med., **148**, 1440-1445 (1978).

7) **Metzgar, R. S., Bertoglio, J., Anderson, J. K., Bonnard, G. D. & Ruscetti, F. W.**: Detection of HLA-DRw (Ia-like) antigens on human T lymphocytes grown in tissue culture. J. Immunol., **122**, 949-953 (1979).

8) **Ko, H. S., Fu, S. M., Winchester, R. J., Yu, D. T. Y. & Kunkel, H. G.**: Ia determinants on stimulated human T lymphocytes. J. Exp. Med., **150**, 246-255 (1979).

9) **Indiveri, F., Wilson, B. S., Russo, C., Quaranta, V., Pellegrino, M. A. & Ferrone, S.**: Ia-like antigens on human T lymphocytes: Relationship to other surface markers, role in mixed lymphocyte reactions, and structural profile. J. Immunol., **125**, 2673-2678 (1980).

10) **Waele, M. D., Thielemans, C. & Van Camp, B. K. G.**: Characterization of immunoregulatory T cells in EBV-induced infectious mononucleosis by monoclonal antibodies. N. Engl. J. Med., **304**, 460-462 (1981).

11) **Fu, S. M., Chiorazzi, N., Wang, C. Y., Montazeri, G., Kunkel, H. G., Ko, H. S. & Gottlieb, A. B.**: Ia-bearing T lymphocytes in man. Their identification and role in the generation of allogeneic helper activity. J. Exp. Med., **148**, 1423-1428 (1978).

12) **Reinherz, E. L., Parkman, R., Rapperport, J., Rosen, F. S. & Schlossman, S. F.**: Aberrations of suppressor T cells in human graft-versus-host disease. N. Engl. J. Med., **300**, 1061-1069 (1979).

13) **Yu, D. T. Y., Winchester, R. J., Fu, S. M., Bibofsky, A., Ko, H. S. & Kunkel, H. G.**: Peripheral blood Ia-positive cells. Increased in certain diseases and after immunization. J. Exp. Med., **151**, 91-100 (1980).

14) **Kurnick, J. T., Östberg, L., Stegagno, M., Kimura, A. K., Örn, A. & Sjöberg, O.**: A rapid method for separation of functional lymphoid cell populations of human and animal origin on PVP-silica (percoll) density grandients. Scand. J. Immunol., **10**, 563-573 (1979).

15) **Yachie, A., Miyawaki, T., Yokoi, T., Nagaoki, T. & Taniguchi, N.**: Ia-positive cells generated by PWM-stimulation within OKT 4^+ subset interact with OKT 8^+ cells for inducing active suppression on B cell differentiation in vitro. J. Immunol., **129**, 103-106 (1982).

16) **Reinherz, E. L., Kung, C., Pesando, J. M., Ritz, J., Goldstein, G. & Schlossman, S. F.**: Ia determinants on human T-cell subsets defined by monoclonal antibody. Activation stimuli required for expression. J. Exp. Med., **150**, 1472-1482 (1979).

17) **Reinherz, E. L., Morimoto, C., Penta, A. C. & Schlossman, S. F.**: Subpopulations of the $T4^+$ inducer T cell subset in man: Evidence for an amplifier population preferentially expressing Ia antigen upon activation. J. Immunol., **126**, 6-70 (1981).

18) **Reinherz, E. L., Geha, R., Wohl, M. E., Morimoto, C., Rosen, F. S. & Schlossman, S. F.**: Immunodeficiency associated with loss of $T4^+$ inducer T-cell function. N. Engl. J. Med., **304**, 811-816 (1981).

Functional Characteristics of Cord Blood T Cell Subsets [II] Expression Ability of Ia-like Antigens on T Cell Subsets in Human Cord Blood on Pokeweed Mitogen Stimulation Akihiro Yachie, Department of Pediatrics (Director: Prof. N. Taniguchi), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 – J. Juzen Med. Soc., **91**, 828–835 (1982)

Key words: Cord Blood Lymphocytes, T Cell Subsets, Ia-like Antigen

Abstract

Expression of Ia-like antigens on human peripheral blood T lymphocytes from different age groups was studied by indirect immunofluorescence with monoclonal OKIal antibody. Only less than 5% of the resting T cells or of T cells cultured with no addition of pokeweed mitogen (PWM) expressed Ia-like antigens on their surfaces. When adult peripheral blood T cells were cultured for 8 days in the presence of the optimal concentration of PWM, they underwent blastoid transformation as evaluated by the uptake of ^{3}H-thymidine (^{3}H-thymine desoxy-riboside: ^{3}H-TdR) and microscopic examination, and about 40% of them expressed Ia-like antigens on the surfaces. Fractionation of the cultured T cells with Percoll discontinuous gradient into two fractions of different specific gravity revealed that Ia-like antigens were expressed mostly on large blastoid cells transformed by PWM stimulation. On the contrary, cord blood T cells expressed few Ia-like antigens after PWM simulation, although they were transformed into blastoid cells morphologically and proliferated well to PWM as shown by their ^{3}H-TdR uptake greater than that of adult T cells. Expression ability of Ia-like antigens on T cells increased with advancing ages and the percentages of Ia-positive cells became comparable to that of adult T cells by the age of 3 years or later. Peripheral blood T cells were separated into two distinct subsets defined with monoclonal OKT4 and OKT8 antibodies by complement-mediated cytolysis. Only OKT4^{+} cells from adult T cells underwent blastoid transformation and expressed Ia-like antigens on their surfaces. Cultured T cells under PWM simulation were treated with either of these monoclonal antibodies and complement, and the expression of Ia-like antigen were reexamined. The percentage of Ia-positive cells reduced significantly after the unfractionated cultured T cells were treated with OKT4 and complement. However, little change in the expression of Ia-like antigen was observed when the cells were treated with OKT8 and complement. These resluts indicate that only OKT4^{+} cells from adult T cells have the ability to express Ia-like antigens on their surfaces upon stimulation with PWM. Considering the preceding report on the distribution of T cell subsets in cord blood and their regulatory role on the differentiation of B cells into immunoglobulin-secreting cells, poor expression ability of Ia-like antigens on cord blood T cells might have some relationship with the functional characteristics of cord blood OKT4^{+} cells. To disclose the relationship, further investigation of the functional role of Ia-like antigen framework and Ia-positive T cells is mandatory.