マウスの胸腺リンパ球,脾リンパ球およびリンパ節細胞の脂質組成と脂質の脂肪酸構成

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/2297/8866

マウスの胸腺リンパ球，脾リンパ球およびリンパ節細胞の脂質組成と脂質の脂肪酸構成

金沢大学医学部薬理学教室（主任：正印　達教授）
木越　茂
北島耕作
川尻博男
小久保護
河野照茂
西尾真友

（昭和55年10月28日受付）

近年，免疫反応における脂肪酸の役割が多くの関心を集めており，リンパ球の脂質が種々の免疫反応に関与することが明らかにされている[1]．他方，コレステロールとリン脂質の組成が正常リンパ球（人の血液リンパ球またはマウスのリンパ節細胞）と白血病細胞とでは異なることが報告されており，リンパ球における両脂質の割合とリンパ球の膜の性状との間には密接な関係のあることが示唆されている[2)-5)]．また，結核菌を投与した兎と未処置の兎とではリンパ節細胞のリン脂質の脂肪酸構成が異なること，レクチンによる刺激でリンパ球膜の流動性とリン脂質の脂肪酸構成が同時に変化することなどが報告されている[6)7)]．したがって，リンパ球の脂質組成や脂質の脂肪酸構成とリンパ球の機能との間には何らかの関係のあることが推察される．これまでに，胸腺リンパ球と脾リンパ球，あるいは脾リンパ球とリンパ節細胞とでは免疫学的な性状や機能に差異のあることが実証されている[8)9)]．しかしながら，胸腺，脾臓およびリンパ節のリンパ球の脂質組成や脂質の脂肪酸構成についての比較検討がなされていない．

本論文では，マウスの胸腺，脾臓，けい部リンパ節および腸間膜リンパ節のリンパ球の脂質組成と脂質の脂肪酸構成を薄層クロマトグラフィーとガスクロマトグラフィーによって調べ，それぞれのリンパ球の脂質組成と脂質の脂肪酸構成を比較検討した．

材料および方法

Ⅰ．リンパ球浮遊液の調整

一群30匹のddY系雌マウス（7－8週令）より胸腺，脾臓，けい部リンパ節および腸間膜リンパ節を摘出し，ハンクス液を用いて，それぞれの組織からリンパ球浮遊液を調整した[10)]．すなわち，細切した組織を150 mlのハンクス液に浮遊させて500 mlのフラスコに入れ，スターラーで15分間かくはんしてから，ガーゼで濾過して組織残渣を除去した．細胞浮遊液を遠心（1000rpm,10分）したのち，細胞に混在している赤血球を除くために,細胞を0.83％の塩化アンモン液に浮遊させて25℃で15分間インキュベートした[11)]．塩化アンモンで処置した細胞をハンクス液で2回遠心，洗浄してから，適量のハンクス液を加えて約10^7個／mlの細胞浮遊液を調整し,遠心管に入れて4℃に90分間静置した．管底に沈んだ凝集片を除いてから，細胞浮遊液を遠心し,ハンクス液で10^8－10^9個／mlの細胞浮遊液を調整して脂質の抽出に用いた．胸腺およびリンパ節から調整した細胞浮遊液では，95－98％の細胞がリンパ球で，2－4％の細胞がマクロファージであった．また，脾臓から調整した細胞浮遊液では，ほぼ90％の細胞がリンパ球であり,残りの細胞はマクロファージであった．

Lipid Composition and Fatty Acid Pattern of Lipid Classes in Lymphoid Cells from Thymus, Spleen and Lymph Node of Mice. **Shigeru Kigoshi, Kousak_ Kitajima, Hiroo Kawajiri, Mamoru Kokubo, Terushige Kohno & Matomo Nishio,** Department of Pharmacology, School of Medicine, Kanazawa University.

Ⅱ． リンパ球脂質の抽出

Folchらの方法[12]によってリンパ球の脂質を抽出した．10 mlの細胞浮遊液（10^8 － 10^9 個／ml）に20倍量のクロロホルム・メタノール(CM,2:1, v/v)を加えて混和し，室温に一夜放置した．この混液をガラス・フィルターで濾過したのち，濾液に1/5量の生理食塩水を加えて振とうしてから，4 ℃で静置した．混液が2層に分離してから，上層を棄て，脂質を含む下層をロータリー・エバポレーターで窒素ガスの下に40 ℃で濃縮した．濃縮後，油状物質（総脂質）を少量のCMに溶解して，使用するまで－20 ℃に保存した．マウス30匹分の総脂質の収量は，胸腺リンパ球および脾リンパ球では5 － 6 mg，リンパ節細胞では1 mg前後であった．

Ⅲ． リンパ球脂質の定性

1． リン脂質の同定：ガラス板（5 × 20 cm）上にシリカゲルH(E.Merck)の薄層(厚さ0.25 cm)を作り，110 ℃で30分間加熱して実験に用いた[13]．クロマトプレートの一端から2.5 cmの所に1 － 1.5 mgのリンパ球総脂質をマイクロピペットで線状にスポットしてから，クロロホルム・メタノール・水（展開溶媒A,65:25:4, v/v）[14]で15 cm展開した．展開溶媒を除いたクロマトプレートにヨード試薬(脂質の検出用)[13]を噴霧してスポットの位置を確認したのち，リンモリブデン酸試薬（脂質の検出用），Dittmer － Lester試薬（リン脂質の検出用），ニンヒドリン試薬（アミノ基の検出用），アンスロン硫酸試薬（糖脂質とステロール類の検出用），アンチモン試薬（ステロール類の検出用）など[13]を用いて脂質の種類を調べた．リン脂質を同定するために，ホスファチジルコリン（E.Merck），ホスファチジルエタノールアミン，ホスファチジルセリン(Nb Co.)などを展開溶媒Aで薄層上に展開してそれぞれのリン脂質のRf値を求め，リンパ球脂質のRf値と比較した．

2． 中性脂質の同定：シリカゲルHの薄層（5 × 20 cm，厚さ0.25 mm）にリンパ球の総脂質をスポットし，ヘキサン・エチルエーテル・酢酸（展開溶媒B,70:30:2, v/v）[15]で15 cm展開したのち，リンモリブデン酸試薬，Dittmer － Lester試薬，アンチモン試薬などで脂質の種類を調べた．また，コレステロール(E.Merck)，コレステロールパルミテート(Sigma)，パルミチン酸，モノパルミチン，ジパルミチン，トリパルミチン（PL Biochemicals）などを展開溶媒Bで薄層上に展開してそれぞれの脂質のRf値を求め，リンパ球の中性脂質のRf値と比較した．

Ⅳ． リンパ球脂質の定量

リンパ球のリン脂質または中性脂質の含量をAmentaの方法[16]によって調べた．シリカゲルHの薄層（20 × 20 cm，厚さ0.25 mm）上に5本のレーンを作り，それぞれのレーンにリンパ球の総脂質（1 － 1.5 mg）または標準脂質をスポットし，展開溶媒AまたはBで16 cm展開した．展開後，ヨード試薬によってスポットの位置を確認してから，クロマトプレートを90 － 100 ℃で30分間加熱した．放冷後，クロマトプレートより脂質を含むシリカゲルをかきとって試験管に移し，重クロム酸カリ試薬（2.5gの重クロム酸カリウムを1 lの36N硫酸に溶解したもの）[16] 2 － 3 mlを加えて，100 ℃で45分間処置した．放冷後，2000rpmで15分間遠心し，その上清0.5 mlを20 mlの水で稀釈したものを350nmの吸光度で比色して脂質量を次式によって求めた．また，脂質を含まないシリカゲルをクロマトプレートからかきとり，脂質を含むシリカゲルの場合と同様な操作をして吸光度を求めた（シリカゲル盲験値）．なお，標準脂質としてホスファチジルコリン（2.0 mg／ml），コレステロール（2.0 mg／ml）およびパルミチン酸（2.0 mg／ml）を用いた．

$$\text{被験脂質量}(\mu g) = \text{標準脂質量}(\mu g) \times \frac{\text{シリカゲル盲検値} - \text{被験物測定値}}{\text{シリカゲル盲検値} - \text{標準脂質測定値}}$$

Ⅴ． リンパ球脂質の脂肪酸構成の分析

分取薄層クロマトグラフィーで分離・精製したリンパ球のリン脂質および中性脂質の各成分を塩酸メタノールでメチル化したのち，それぞれの脂質の脂肪酸構成をガスクロマトグラフィーで調べた．

1． リン脂質および中性脂質の分離：リンパ球のリン脂質または中性脂質の脂肪酸構成を調べるために，脂質の各成分を薄層クロマトグラフィーで分離・精製した．厚さ1 mmのシリカゲルHの薄層（20 × 20 cm）の一端から2.5 cmの所にリンパ球の総脂質（ほぼ100 mg）を線状にスポットし，展開溶媒Bを用いて17 cm展開した．クロマトプレートを充分に乾燥してから，ヨード試薬によってスポットの位置を確かめ，ヨードが退色してから，脂質を含むシリカゲルをかきとって，CMで脂質を抽出した．展開溶媒Bで原点に残っていた脂質（リン脂質）は，展開溶媒Aを用いる一次元薄層クロマトグラフィーで分離・精製した．

2． 脂肪酸のメチル化[17]：5 － 10 mgの脂質に2 mlの5％塩酸メタノールを加えて65 － 70 ℃で15時間処理したのち，5 mlの水と2 mlのヘキサンを加えて混和した．混液が2層に分離してから，ヘキサン層を採り，窒素ガスの下で40 ℃で減圧濃縮した．残渣を少量のクロロホルムに溶解し，シクロヘキサン・クロロホルム（1:1, v/v）[17]を展開溶媒とする一次元薄層クロマト

グラフィーによって脂肪酸メチルエステルを分離したのち，クロマトプレートより脂肪酸メチルエステルを含むシリカゲルをかきとり，ヘキサンで脂質を抽出してガスクロマトグラフィーに用いた．

3．脂肪酸メチルエステルの分析：ガスクロマトグラフは水素炎イオン化検出装置付きの日立モデル063を使用した．カラムは長さ200 cm，内径3 mmのガラス管で，60－80メッシュのChromosorb W（AW－DMCS）にコハク酸ジエチルグリコールを15％の割合にコーティングしたものを充てんした．カラムの温度は205 ℃，試料気化室の温度は230 ℃，検出器の温度は250 ℃であった．また，キャリアーガスとして用いた窒素ガスの流速は60 ml／分であり，ガスクロマトグラフの検出器の感度はレンジが10，アッテネーションが16であった．

ガスクロマトグラムから，リンパ球脂質の構成脂肪酸を同定するために，個々の脂肪酸メチルエステルの相対保持時間をガスクロマトグラフ用の標準物質（Analytical Standard Kits，ガスクロ工業）の相対保持時間と比較した[18]．また，構成脂肪酸の含量は，全ピーク面積の合計を100として百分率（％）で表わした．すなわち，ピーク面積（半値巾×ピーク高）をそれぞれの脂肪酸について求めたのち，全ピーク面積を算出して100とした[18]．

成　　積

Ⅰ．リンパ球の脂質組成

図1のAはクロロホルム・メタノール・水（65:25:4）で，Bはヘキサン・エチルエーテル・酢酸（70:30:2）で展開したマウス脾リンパ球の総脂質の一次元薄層クロマトグラムを示したもので，他のリンパ球の総脂質についても同様なクロマトグラムが得られた．検出試薬に対する反応結果およびRf値から，クロマトグラムAの5個のスポット（1－5）はそれぞれリゾホスファチジルコリン，ホスファチジルコリン，ホスファチジルグリセロールおよび中性脂質と同定され，クロマトグラムBの4個のスポット（N2－N5）はそれぞれコレステロール，遊離脂肪酸，トリグリセリドおよびコレステロールエステルと同定された（表1および2）．リン脂質のうち，ホスファチジルコリン以外の成分はAmentaの方法で定量することが困難であったので，ホスファチジルコリンと中成脂質の各成分についてそれぞれの含量を調べた．

表3はマウスの胸腺，脾臓，けい部リンパ節および腸間膜リンパ節から得られたリンパ球の脂質組成を示したもので，それぞれの値は10^{10}個の細胞の脂質量を

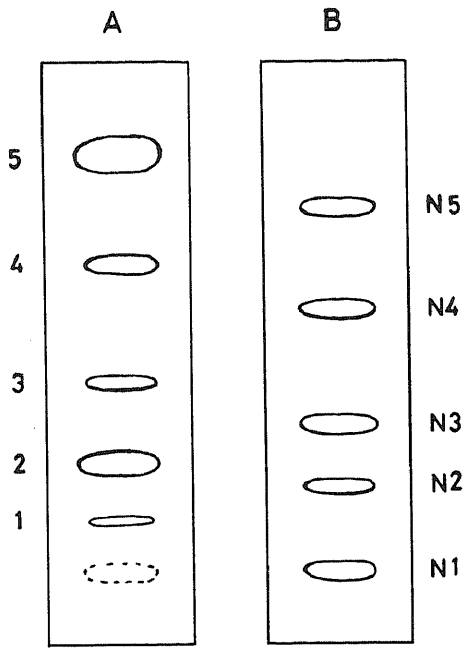


Fig. 1. Chromatograms of total lipids from splenic lymphoid cells of mice. The total lipids were developed one-dimensionally on silica gel H plates either with chloroform-methanol-water (65:25:4, by vol.) (A) or with hexane-ethyl ether-acetic acid (70:30:2, by vol.) (B), and lipids were detected with phosphomolybdate. Number refers to Table 1 and 2.

表している．胸腺リンパ球のホスファチジルコリンの量は20 mgで，他のリンパ球のリン脂質量（29－36 mg）に比較して少なく，2/3以下であった．中性脂質ではトリグリセリドの量がリンパ節細胞と胸腺または脾臓のリンパ球とでは異なっており，けい部リンパ節細胞では21 mg，腸間膜リンパ節では12 mgであったが，胸腺や脾臓のリンパ球では5－6 mgであった．また，腸管膜リンパ節細胞ではその他の中性脂質の含量も他のリンパ球に比較して多く，遊離脂肪酸量は3－4倍（30 mgと8－9 mg），コレステロールエステルの量は2倍以上（14 mgと5－7 mg）になっていた．なお，総脂質の量もリンパ球ごとに異なっており，胸腺リンパ球の総脂質量が49 mgであったのに対し，腸間膜リンパ節細胞の総脂質量は109 mgで，胸腺リンパ球の総脂質量の2倍以上になっていた．脾リンパ球とけい部リンパ節細胞の総脂質量はそれぞれ62 mgと81 mgで，胸腺リンパ球や腸間膜リンパ節細胞の総脂質量とは異なっていた．すなわち，マウスの胸腺，脾臓，けい部リンパ節および腸間膜リンパ節から得られたリンパ球の脂質組

Table 1. Chromatographic characterization of phospholipids from mouse lymphoid cells

Spot no.	Rf values in solvent A *	Color reaction by spray reagents **						Possible identification
		R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	
1	0.12	+	+	+	−	−	−	Lysophosphatidyl choline
2	0.24	+	+	+	−	−	−	Phosphatidyl choline
3	0.43	+	+	−	−	−	−	Phosphatidyl glycerols
4	0.70	+	−	−	−	+	+	Neutral lipids
5	0.95	+	−	−	−	+	+	Neutral lipids

* Solvent A: chloroform-methanol-water (65:25:4, by vol.).
** Spray reagents: Rl, phosphomolybdate for lipids; R2, Dittmer-Lester reagent for phospholipids; R3, Dragendorff reagent for choline; R4, ninhydrin reagent for amino groups; R5, anthrone-sulfuric acid for glycolipids and sterols; R6, antimony trichloride for sterols.

Table 2. Chromatographic characterization of neutral lipids from mouse lymphoid cells

Spot no.	Rf values in solvent B *	Color reaction by spray reagents **			Possible identification
		R 1	R 2	R 3	
N 1	0.00	+	+	−	Phospholipids
N 2	0.10	+	−	+	Cholesterol
N 3	0.33	+	−	−	Free fatty acids
N 4	0.60	+	−	−	Triglycerides
N 5	0.83	+	−	+	Cholesterol esters

* Solvent B: hexane-ethyl ether-acetid acid (70:30:2, by vol.)
** Spray reagents: Rl, phosphomolybdatate for lipids; R2, Dittmer-Lester reagent for phospholipids; R6, antimony trichloride for sterols.

Table 3. Lipid composition of lymphoid cells from thymus, spleen and lymph node of mice

Lymphoid cells	Lipid composition of lymphoid cells (mg/10^{10} cells) *					
	Phosphatidyl choline	Cholesterol	Fatty acids	Triglycerides	Cholesterol esters	Total lipids
Thymic cells	19.9±0.6	7.3±0.3	7.8±0.4	5.0±0.4	5.4±0.5	48.7±1.1
Splenic cells	29.2±1.3	9.2±0.4	8.2±0.3	6.4±0.5	4.6±0.4	62.4±1.6
Cervical cells	31.5±1.5	8.0±0.5	9.1±0.6	20.9±1.7	6.8±0.2	81.4±2.5
Mesenteric cells	35.5±0.9	11.9±0.4	29.6±1.2	11.5±0.9	13.8±0.7	109.2±2.0

* Each value represents mean ± SE of 6 experiments.

成は，それぞれのリンパ球ごとに異なっていた．

Ⅱ．　リンパ球のリン脂質および中性脂質の脂肪酸構成

マウスリンパ球の脂質組成に関連して，リンパ球のリン脂質および中性脂質の脂肪酸構成をガスクロマトグラフィーで調べた（表4）．リンパ球のホスファチジルコリンの主要な構成脂肪酸はC16:0,C18:0,C18:1およびC18:2であったが，胸腺リンパ球ではC18:0が23％で他のリンパ球の30％前後に比較して少なく，けい部リンパ節細胞ではC18:1が7％で他のリンパ球の13－19％に比較して少なかった．また，ホスファチジルコリンのその他の構成脂肪酸の割合もリンパ球ごとに異なっていた．

中性脂質では，遊離脂肪酸の構成脂肪酸がリンパ節細胞と胸腺リンパ球または脾リンパ球とでは著しく異なっていた．腸間膜リンパ節細胞ではC16:0とC18:0の割合が他のリンパ球に比較して少なかったが，C18:1とC18:2の割合は他のリンパ球よりも多くなっていた．すなわち，遊離脂肪酸中のC16:0，C18:0，C18:1およびC18:2の割合は，腸間膜リンパ節細胞では34％，6％，39％および12％であったが，その他のリンパ球では43－58％，11－14％，5－30％および3－7％であった．また，けい部リンパ節細胞では遊離脂肪酸中のC18:1の割合が5％で他のリンパ球の26－39％に比較して著しく少なかったが，C20以上の脂肪酸の割合は他のリンパ球よりも多くなっていた．トリグリセリドの脂肪酸構成は腸間膜リンパ節細胞とその他のリンパ球とでは異なっており，腸間膜リンパ節細胞ではC16:0の割合が他のリンパ球よりも多くなっていたが，C16:1,C18:1などの不飽和脂肪酸の割合は他のリンパ球に比較して著しく少なくなっていた．すなわち，トリグリセリド中のC16:1とC18:1の割合は，腸間膜リンパ節細胞では2％と16％であったが，その他のリンパ球では5－9％と23－

Table 4. Fatty acid composition of phosphatidyl choline and neutral lipids from mouse lymphoid cells

Lipid components *	Lymphoid cells **	Fatty acid composition (%) ***										
		14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:1	20:2	20:4	22:0	22:4
PC	Thy. cells	1.4	36.8	3.0	22.7	18.9	7.2	1.4	1.2	5.1	tr.	tr.
	Spl. cells	tr.	30.9	2.1	30.6	13.4	9.8	tr.	1.2	6.3	tr.	tr.
	Cer. cells	tr.	34.7	1.5	33.2	6.7	9.5	tr.	2.2	3.0	1.1	2.6
	Mes. cells	1.7	39.0	2.5	28.6	14.1	10.1	tr.	tr.	1.6	1.3	tr.
FA	Thy. cells	3.0	44.8	4.1	11.2	25.6	6.6	1.0	1.2	–	tr.	tr.
	Spl. cells	2.2	42.7	4.1	12.5	29.8	6.0	1.0	–	–	tr.	tr.
	Cer. cells	4.0	57.9	tr.	13.9	5.0	3.1	–	4.3	–	1.7	8.4
	Mes. cells	1.9	34.3	5.9	5.6	38.7	11.7	1.4	–	–	tr.	–
TG	Thy. cells	4.7	49.2	5.1	11.1	23.4	4.8	tr.	–	–	–	1.6
	Spl. cells	2.8	40.2	6.5	11.6	28.7	5.3	1.0	–	tr.	tr.	2.5
	Cer. cells	3.5	33.6	9.0	8.9	32.6	6.9	1.5	tr.	tr.	–	3.4
	Mes. cells	4.1	63.6	2.3	10.2	15.7	3.9	–	–	–	–	tr.
ChE	Thy. cells	5.6	54.9	2.1	15.6	10.1	1.8	–	–	2.0	tr.	7.7
	Spl. cells	4.8	56.3	2.5	16.7	11.4	1.8	–	–	tr.	1.8	4.4
	Cer. cells	4.4	54.6	2.4	12.4	9.6	1.1	tr.	tr.	1.5	tr.	12.9
	Mes. cells	2.3	68.8	1.3	16.4	8.9	tr.	–	–	tr.	–	2.1

* PC, phosphatidyl choline, FA, free fatty acids; TG, triglycerides; ChE, cholesterol esters.
** Thy. cells, thymic lymphoid cells ; Spl. cells, splenic lymphoid cells, Cer. cells, cervical lymphoid cells; Mes. cells, mesenteric lymphoid cells.
*** Tr.: trace amount (less than 1%).

33％であった．なお，コレステロールエステルではC22:4の割合がリンパ球ごとに異なっており，けい部リンパ節細胞では13％と多く，腸間膜リンパ節細胞では2％と少なかった．これらの成績は，マウスリンパ球のリン脂質および中性脂質の各成分の脂肪酸構成もリンパ球ごとに異なることを示している．

表5はマウスリンパ球のリン脂質および中性脂質の構成脂肪酸中の飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の割合を示したもので，リン脂質やコレステロールエステルでは飽和脂肪酸の割合がいずれのリンパ球においても多くなっていた．しかし，遊離脂肪酸やトリグリセリドでは，飽和脂肪酸の多いリンパ球と不飽和脂肪酸の多いリンパ球とがあり，中性脂質中の飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の割合がリンパ球の種類によって異なっていた．

考　　察

本研究により，マウスの胸腺，脾臓，けい部リンパ節および腸間膜リンパ節のリンパ球の脂質組成および脂質の脂肪酸構成がそれぞれのリンパ球によって著しく異なることが実証された．すなわち，胸腺リンパ球ではホスファチジルコリンの含量が他のリンパ球に比較して少なかったが，けい部リンパ節細胞ではトリグリセリドの量が他のリンパ球に比較して2倍以上あり，腸間膜リンパ節細胞では遊離脂肪酸とコレステロールエステルの含量が他のリンパ球の脂質量の3倍以上と2倍になっていた．脂質の脂肪酸構成では，遊離脂肪酸とトリグリセリド中の飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の割合がリンパ節細胞と胸腺リンパ球や脾リンパ球とでは著しく異なっていた．すなわち，けい部リンパ節細胞ではトリグリセリド中の不飽和脂肪酸の割合と遊離脂肪酸中の飽和脂肪酸の割合が多くなっていた．他方，腸間膜リンパ節細胞では，遊離脂肪酸中に不飽和脂肪酸が多く，トリグリセリドには飽和脂肪酸が多かった．なお，コレステロールエステル中の不飽和脂肪酸の割合もリンパ球ごとに異なっていた．

コレステロールとリン脂質，とくにホスファチジルコリンの含量が，正常リンパ球と白血病細胞とでは異

Table 5. Proportion of saturated and unsaturated fatty acids in phosphatidyl choline or neutral lipids from mouse lymphoid cells

Lipid components *	Lymphoid cells	Proportion of saturated and unsaturated fatty acids (%)		Ratio of unsaturated acids to saturated acids
		Saturated acids	Unsaturated acids	
PC	Thymic cells	60.1	36.8	0.61
	Splenic cells	62.6	32.8	0.52
	Cervical cells	73.0	25.5	0.35
	Mesenteric cells	70.6	28.3	0.40
FA	Thymic cells	59.0	38.5	0.65
	Splenic cells	57.4	40.9	0.71
	Cervical cells	77.5	20.8	0.27
	Mesenteric cells	41.8	57.7	1.38
TG	Thymic cells	65.0	34.9	0.54
	Splenic cells	54.6	44.0	0.81
	Cervical cells	46.0	53.3	1.16
	Mesenteric cells	77.9	21.9	0.28
ChE	Thymic cells	76.1	23.7	0.31
	Splenic cells	79.6	20.1	0.25
	Cervical cells	71.4	27.5	0.39
	Mesenteric cells	87.5	12.3	0.14

* PC, phosphatidyl choline; FA, free fatty acids; TG, triglycerides: ChE, cholesterol esters.

なることが報告されており，これらの脂質の割合とリンパ球の膜の性状や機能との間には密接な関係のあることが示唆されている[2)-5)]．また，リンパ球のリン脂質の脂肪酸構成が膜の性状に関係していることが報告されている[6)7)]．したがって，マウスの胸腺，脾臓，けい部リンパ節および腸間膜リンパ節から得られたリンパ球の脂質組成や脂質の脂肪酸構成がリンパ球ごとに異なっていることから，膜の性状や機能がそれぞれのリンパ球によって異なるのではないかと推察される．

リンパ球はT細胞とB細胞に分類され，それぞれのリンパ球の免疫学的な性状や機能が異なることが知られている[8)9)]．また，Tリンパ球とBリンパ球の割合はマウスのリンパ組織ごとに異なっており，胸腺では5％前後のリンパ球がT細胞で残りのリンパ球は未熟なT細胞であるが，脾臓では過半数（50－60％）のリンパ球がB細胞であり，リンパ節では大部分（60－80％）のリンパ球がT細胞であることが報告されている[8)9)]．他方，Cahillらはマウスの腸間膜リンパ節のT細胞とその他のリンパ節のT細胞とは異なるcell population（細胞集団）に属することを報告している[19)]．Tリンパ球のマーカーである非特異的エステラーゼ[20)21)]の有無によって調べたddYマウスの各リンパ組織におけるT細胞の割合は，脾臓では58％，けい部リンパ節では70％，腸管膜リンパ節では78％であった．したがって，マウスの胸腺，脾臓，けい部リンパ節および腸間膜リンパ節のリンパ球の間に見られた脂質組成や脂質の脂肪酸構成の相違は，それぞれの組織中のTリンパ球とBリンパ球の割合やcell populationの違いによるものではなかろうか[22)]．

結　論

マウスの胸腺，脾臓，けい部リンパ節および腸間膜リンパ節のリンパ球について脂質組成と脂質の脂肪酸構成を調べて以下の成績を得た．

1．胸腺リンパ球のホスファチジルコリンの含量は他のリンパ球に比較して少なく，2/3以下であった．他方，けい部リンパ節細胞ではトリグリセリドの量が他のリンパ球よりも著しく多く，2倍以上になっていた．また，腸間膜リンパ節細胞では遊離脂肪酸とコレステロールエステルの量が他のリンパ球よりも著しく多く，遊離脂肪酸量は3－4倍，コレステロールエステルの量は2－3倍になっていた．

2．遊離脂肪酸とトリグリセリドの脂肪酸構成はリンパ球ごとくに異なっていた．特にけい部リンパ節細胞ではトリグリセリドに不飽和脂肪酸が多く（53％），遊離脂肪酸中には飽和脂肪酸が多かった（78％）．他方，腸間膜リンパ節細胞ではトリグリセリドに飽和脂肪酸が多く（78％），遊離脂肪酸中には不飽和脂肪酸が多かった（58％）．

3．トリグリセリドおよび遊離脂肪酸の構成脂肪酸のうち，C16:1，C18:1，C18:2などの割合がリンパ球ごとに異なっていた．すなわち，トリグリセリド中のC16:1とC18:1の割合は2－9％と16－33％であり，遊離脂肪酸中のC18:1とC18:2の割合は5－39％と3－12％であった．

稿を終るにのぞみ，御校閲を賜わった正印達教授に深謝いたします．

文　献

1) **Meade, C. J. & Mertin, J.** : Fatty acids and immunity. Adv. Lipid Res., **16**, 127－165 (1978).

2) **Gottfried, E. L.** : Lipids of human leukocytes : relation to cell type. J. Lipid Res., **8**, 321－327 (1967).

3) **Gottfried, E. L.** : Lipid patterns in human leukocytes maintianined in long-term culture. J. Lipid Res., **12**, 531－537 (1971).

4) **Vlodavsky, I. C. & Sachs, L.** : Difference in the cellular cholesterol to phospholipid ratio in normal lymphocytes and lymphocytic leukemic cells. Nature, **250**, 67－68 (1974).

5) **Inbar, M. & Shinitzky, M.** : Cholesterol as a bioregulator in the development and inhibition of leukemia. Proc. natl. Acad. Sci. USA, **71**, 4229－4231 (1974).

6) **Ferber, E., de Pasquale, G. G. & Resch, K.** : Phospholipid metabolism of stimulated lymphocytes : composition of phospholipid fatty acids. Biochim. Biophys. Acta, **398**, 364－376 (1975).

7) **Resch, K. & Ferber, E.** : The role of phospholipids in lymphocyte activation. p281－312, in A. S. Rosenthal (ed), Immune recognition, Academic Press Inc., New York, 1975.

8) **Raff, M. C. & Cantor, H.** : Subpopulations of thymic cells and thymus-derived lymphocytes. Prog. Immunol., **1**, 73－83 (1971).

9) **Greaves, M. F., Owen, J. J. T. & Raff, M. C.** : T and B lymphocytes : origin, properties and roles in immune recognition. Excerpta Medica,

Amsterdam, 1973.

10) Kigoshi, S. & Ito, R. : High levels of free fatty acids in lymphoid cells, with special reference to their cytotoxicity. Experientia, **29,** 1408－1410 (1973).

11) Daniels, J. C. & Weigle, W. O. : Antibody-producing cells in rabbits injected with soluble BSA. I. Hemolytic plaque assay. J. Immunol., **101,** 1223－1229 (1968).

12) Folch, J., Lees, M. & Sloan Stanley, G. H. : A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., **226,** 497－509 (1957).

13) 木越茂，北島耕作，林義則，西一也：A群溶連菌のリン脂質および糖脂質について．十全医会誌，**87,** 664 － 673 (1978).

14) Wagner, H., Horhammer, C. & Wolf, P. : Dünnschichtchromatographie von Phospholipiden und Glykolipiden. Biochem. Z., **334,** 175－184 (1961).

15) Colp, T. W., Tucker, P. W., Raltiff, C. R. & Hall, F. F. : Chromatographic analysis of ocular lipids. I. Bovine and human iris tissue. Biochim. Biophys. Acta, **218,** 258－268 (1970).

16) Amenta, J. S. : A rapid chemical method for quantitation of lipids separated by thin-layer chromatography. J. Lipid Res., **5,** 270 － 272 (1964).

17) Christoph, A. & Methijis, F. : New method for the determination of the fatty acid pattern of serum lipid classes. Clin. Chim. Acta, **16,** 39 －43 (1967).

18) 舟阪渡，池川信夫：最新ガスクロマトグラフィー＝基礎と応用＝ Ⅰ基礎編，307 － 314頁．東京，広川書店，1970.

19) Cahill, R. N. P., Poskitt, D. C., Prost, H. & Truka, Z. : Two distinct pools of recirculating T lymphocytes : migratory characteristics of nodal and intestinal T lymphocytes. J. exp. Med., **145,** 420－428 (1977).

20) Muller, J., Reun del Re, G., Buerki, H., Keller, H. V., Hess, M. W. & Cottier, H. : Nonspecific acid esterase activity : a criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymph node. Eur. J. Immunol., **5,** 270－274 (1975).

21) Ranki, A., Tötterman, T. H. & Häyry, P. : Identification of mouse T and B lymphocytes from cytocentrifuged smears. Clin. exp. Med., **26,** 632－640 (1976).

22) Kigoshi, S. : Relationship between lymphoid cell popuoation and levels of cholesterol or phospholipids. Experientia, **34,** 1222 － 1223 (1978).

Lipid Composition and Fatty Acid Pattern of Lipid Classes in Lymphoid Cells from Thymus, Spleen and Lymph Node of Mice Shigeru Kigoshi, Kousaku Kitajima, Hiroo Kawajiri, Mamoru Kokubo, Terushige Kohno and Matomo Nishio. Department of Pharmacology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan. J. Juzen Med. Soc., **89**, 731–739 (1980).

Abstract The lymphoid cells from various tissues of mice were examined for their lipid composition and fatty acid pattern of lipid classes by thin-layer and gas-liquid chromatography.

According to the method of Folch et al, the total lipids were extracted from the lymphoid cells of thymus, spleen, cervical lymph node and mesenteric lymph node of female mice (ddY strain, 7-8 weeks old). The total lipids were separated into individual lipid components by one-dimensional thin-layer chromatography using chloroform-methanol-water (65 : 25 : 4, by vol.) and hexane-ethyl ether-acetic acid (70 : 30 : 2, by vol.), and the amount of each component was determined by the dichromate reduction procedure of Amenta. For analysis of the fatty acid pattern of lipid components, each component prepared by preparative thin-layer chromatography using the above solvent systems was methylated with methanolic H_2SO_4, and the fatty acid methyl esters were examined by gas-liquid chromatography.

The quantitative analysis of lymphoid cell lipids indicated that there was a significant difference in the composition of neutral lipids among the lymphoid cells from 4 different tissues. The mesenteric lymphoid cells contained a large amount of free fatty acids and cholesterol esters: about 30 and 14 mg/10^{10} cells as compared with 6-9 and 5-7 mg/10^{10} cells in the other lymphoid cells. The quantities of triglycerides in the cervical and mesenteric lymphoid cells were about 21 and 12 mg/10^{10} cells, whereas the triglyceride contents in the other lymphoid cells were less than 6 mg/10^{10} cells. On the other hand, the phospholipid contents of lymphoid cells were about 20 mg/10^{10} cells for thymic lymphoid cells and more than 30 mg/10^{10} cells for the other lymphoid cells.

The fatty acid patterns of phospholipids and neutral lipids in lymphoid cells markedly differed with the original tissues. The proportion of unsatureted fatty acids exceeded 50% in the triglycerides of cervical lymphoid cells and in the free fatty acids of mesenteric lymphoid cells. Whereas, more than 75% of fatty acids were the saturated acids either in the cholesterol esters of thymic, splenic and mesenteric lymphoid cells, the triglycerides of mesenteric lymphoid cells or in the free fatty acids of cervical lymphoid cells.

Therefore, it is evident that a marked difference is found in the lipid composition or in the fatty acid patterns of phospholipids and neutral lipids among the lymphoid cells from thymus, spleen, cervical lymph node and mesenteric lymph node of mice.