

ヒト末梢血Tリンパ球のsubpopulation-1-early Eロゼット形成細胞の性状

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/2297/8657

ヒト末梢血Tリンパ球のsubpopulation

[I] early Eロゼット形成細胞の性状

金沢大学医学部小児科学教室 (主任: 中島博徳教授)

奥 田 則 彦

(昭和52年1月17日受付)

緒 言

ヒトTリンパ球にはヒツジ赤血球 (以下 SRBC) とロゼットを形成する性質がみられ, Tリンパ球検出のマーカーとして広く臨床的に使用されている^{1)~6)}。このEロゼット検出には大別して2つの方法が知られている⁷⁾。1つはSRBCと長時間接触させる事により, ほとんどすべてのTリンパ球を検出する total rosette test, もう1つはリンパ球とSRBCを短時間接触させる事により一部のTリンパ球を検出しようとする“early”あるいは“active”rosette testである。後者はある種の免疫不全症などにおいて低下する事から, Tリンパ球のうちSRBCと親和性が高く, しかも細胞性免疫能を良く反映する population であると考えられている^{8)~10)}。また一種の生理的免疫不全状態とも考えられる臍帯血リンパ球においても early ロゼットが低値をとる事が知られている¹¹⁾。

しかしながら, early rosette test はリンパ球とSRBCの比率, インキュベーション時間, 温度などの条件のわずかな変動により, ロゼット形成に大きな差異がみられる極めて不安定な方法である事¹²⁾¹³⁾, さらに均一な population としての機能の解明が十分になされていない事から, Tリンパ球の subpopulation としての位置づけにはなお疑問の点が多くみられる。

本報では, まず種々の条件の変化による early rosette test への影響を検討し, さらにSRBC fragmentsのロゼット形成に及ぼす抑制効果とリンパ球の可溶性 extracts による上記抑制効果の阻害を通じて, early ロゼット形成細胞の性状, 特にSRBCとの親和性を検討した。

実 験 方 法

1. リンパ球の分離¹⁴⁾

ヘパリンを添加して採血した末梢血をリン酸緩衝液加生理食塩水 (以下 PBS) で2倍に稀釈後, Ficoll-Isopaque 上に重層し $400 \times g$, $4^{\circ}C$ で30分間遠心した。中間に形成された白濁層をピペットで採取しPBSにて3回洗浄後 Medium 199 (以下 M 199) にて $1 \times 10^7/ml$ に調整した。トリパン青により検定した生細胞率は96%以上, ベルオキシダーゼ染色により算定した単球の混入は10%以下であった。

2. SRBC の調整

購入後14日以内のSRBCをPBSにて3回洗浄後 early 及び total ロゼットの検定の為に, それぞれ $8 \times 10^7/ml$, $1 \times 10^9/ml$ にPBSで調整した。

3. total ロゼット形成細胞 (以下 total RFC) の検出法¹⁵⁾¹⁶⁾

リンパ球浮遊液 ($1 \times 10^6/ml$), SRBC ($1 \times 10^9/ml$), ウシ胎児血清 (以下 FCS, $56^{\circ}C$ 30分間非働化後, $37^{\circ}C$ 及び $4^{\circ}C$ にてSRBCで吸収) をそれぞれ25 μl づつ混合し, $200 \times g$, 5分間遠心後室温で30分間静置した。その後静かに攪拌し顕微鏡下で200ケの細胞を数えSRBCを3ケ以上附着した細胞を陽性とし, その百分率を算定した。

4. early ロゼット形成細胞 (以下 early RFC) の検出法⁹⁾

リンパ球浮遊液 ($1 \times 10^7/ml$) 及びFCSをそれぞれ25 μl づつ混合し, $37^{\circ}C$ 1時間インキュベートした。その後SRBC ($8 \times 10^7/ml$) を25 μl 加え室温で $200 \times g$, 5分間遠心後直ちに再浮遊し200ケのリンパ球を数え, 陽性細胞の百分率を計算した。

A subpopulation of human peripheral T lymphocytes [I] Rosetting characteristics of early E rosette-forming cells Norihiko Okuda Department of Pediatrics (Director: Prof. H. Nakajima), School of Medicine, Kanazawa University.

5. SRBC fragments の作製¹⁷⁾¹⁸⁾

PBS に浮遊した SRBC ($1 \times 10^9/\text{ml}$) をソニケーターにて破壊し、 $20,000 \times g$, 4°C で10分間遠心後10分の1量の10% FCS 加 M 199 に再浮遊し SRBC fragments とした。

6. リンパ球の分画方法

リンパ球の分画方法を図1に示した。まずリンパ球浮遊液 ($1 \times 10^7/\text{ml}$) と FCS を数本の試験管にそれぞれ 0.3ml ずつ分注し、 37°C 60分間のインキュベート後 0.3ml の SRBC ($8 \times 10^7/\text{ml}$) を加え $200 \times g$, 5分間遠心して early ロゼットを形成させた。遠心後直ちに静かにピペティングを行い、3~4本の試験管を1本として Ficoll-Isopaque 上に重層し $400 \times g$, 室温で20分間遠心を行った。遠心後沈査及び中間層に 0.83% NH_4Cl -トリス緩衝液 (PH 7.4) を加え室温にて赤血球を完全溶血させた後、PBS で2回洗浄した。その後 M 199 で $1 \times 10^7/\text{ml}$ に調整し沈査を early RFC-enriched population, 中間層を early RFC-depleted population とした。次にこの中間層のリンパ球浮遊液、FCS 及び SRBC ($1 \times 10^8/\text{ml}$) を数本の試験管にそれぞれ 0.3ml ずつ加え total ロゼットを形成させた。その後 Ficoll-Isopaque に重層し $400 \times g$, 20分間遠心し沈査及び中間層を回収した。それぞれに 0.83% NH_4Cl -トリス緩衝液を加え赤血球を溶血させた後 PBS で2回洗浄し M 199 に再浮遊した。沈査を late RFC-enriched population, 中間層を

non-RFC population とした。

7. 可溶性 extracts の作製

未分画リンパ球 (unfractionated PBL), early RFC-depleted, non RFC, early RFC-enriched の各リンパ球をそれぞれ PBS にて $1 \times 10^6/\text{ml}$ に調整し、ドライアイス-アセトン溶液で10回以上 freeze thawing を行った後、 $20,000 \times g$, 4°C 10分間遠心して得られた上清を可溶性 extracts とした。

8. SRBC fragments のロゼット形成に及ぼす抑制効果の検討

未分画リンパ球及び early RFC-depleted population と SRBC fragments を室温で30分間あらかじめインキュベートした後、表1にしたがって total 及び early rosette test を行い SRBC fragments のロゼット形成に及ぼす抑制効果を検討した。

9. リンパ球可溶性 extracts による SRBC fragments の抑制効果の阻害 (表2)

各 population より得られた可溶性 extracts と SRBC fragments を室温15分間インキュベートした。この前処理した SRBC fragments を使用してロゼット形成の抑制効果を total rosette test で検定する事により各 extracts が SRBC fragments にいかなる影響を与えるかを検討した。対照として extracts の代りに PBS を使用して SRBC fragments とインキュベートした。

10. 可溶性 extracts 中の活性物質の検討

SRBC fragments と可溶性 extracts を室温で30分間インキュベート後、 $20,000 \times g$, 4°C で10分間遠心して上清を捨てた。PBS に再浮遊後 37°C で20分間振盪溶出した。その後 $20,000 \times g$, 4°C で10分間遠心して得られた沈査の SRBC fragments 及び上清を使用して上記の実験をそれぞれ行った。

結 果

1. ヒト末梢血の total RFC 及び early RFC の平均値はそれぞれ $74.8 \pm 2.3\%$, $28.7 \pm 2.4\%$ であった。

2. FCS の濃度、インキュベーション時間、温度条件、SRBC とリンパ球の比率の変化が early rosette test に与える影響について検討した結果を図2に示した。まず FCS の最終濃度が5%から33%の範囲では early ロゼット形成に有意の差はみられなかった。 $(P > 0.05)$ また 37°C のインキュベーションの代りに室温 (22°C) で30~60分間インキュベートしてもその値に有意の変化がみられなかった。 $(P > 0.05)$ さらに SRBC を加え $200 \times g$, 遠心後室温10分間放置してお

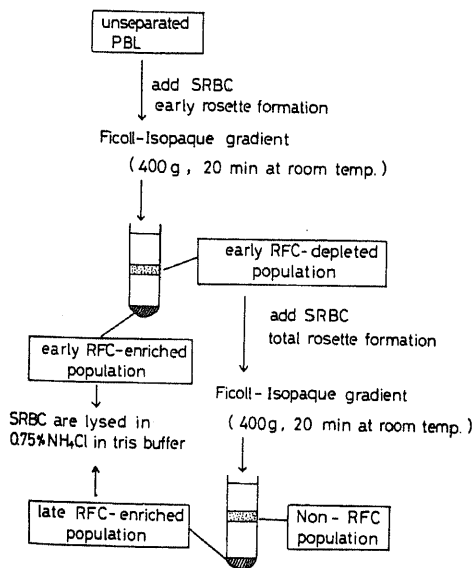


Fig.1 Separation of Rosette Forming Cells

くとロゼット形成の比率の有意の上昇がみられた。(P<0.01) また SRBC とリンパ球の比率を10以上にするとによりロゼット形成は著明に増加した。(P<0.01)

3. SRBC fragments によるロゼット形成の抑制効果を図3, 表3に示した。この結果 early ロゼット

形成は SRBC fragments によりほぼ完全に抑制された。total ロゼット形成も前者とほぼ平行して減少し、その減少値は23%であった。SRBC fragments と抑制効果の間には dose response がみられ 25 μ l 以上の SRBC fragments の添加により抑制は plate

Table 1. Rosette Inhibition Assay with SRBC Fragments

Lymphocyte	25	25	25	25	25	25	(μ l)
25% FCS	25	25	12.5	0	0	0	(μ l)
Fragments	0	0	12.5	25	50	100	(μ l)

incubated (room temp. 30 min)

+25 μ l of SRBC (10^9 /ml)	incubated (37°C, 30 min)
centrifuged (200 $\times$ g 5 min)	+25 μ l of SRBC (8×10^7 /ml)
incubated (room temp. 30 min)	centrifuged (200 $\times$ g. 5 min)
<u>total E RFC</u>	<u>early E RFC</u>

* Blank ; SRBC Fragments were added simultaneously with SRBC.

Table 2. Effect of Lymphocyte Extracts on Rosette Inhibition by SRBC Fragments

Fragments	0	25	100	100	100	100	100	100	μ l
Extracts	0	0	0	10	25	50	100	250	μ l
25% FCS	25	0	0	0	0	0	0	0	μ l

incubated (room temp. 15 min)

added with 25 μ l of lymphocytes (1×10^7 /ml)

incubated (room temp. 30 min)

added with 25 μ l of SRBC (1×10^9 /ml)

centrifuged (200 g. 5 min)

incubated (room temp. 30 min)

total RFC

au に達した。対照として SRBC と SRBC fragments を同時に添加したが抑制はみられなかった。また SRBC fragments を60℃ 2分間の熱処理,あるいは freeze-thawing を行うことによりロゼット形成を抑制する活性は消失した。

さらに Ficoll-Isopaque 比重遠心法により分離した early RFC-depleted population (early RFCの混入は5%以下であった。表4) を使用し抑制効果をみた所ほとんど抑制を受けなかった。この事より SRBC fragments による抑制効果は early RFCに特異的なものと考えられた。

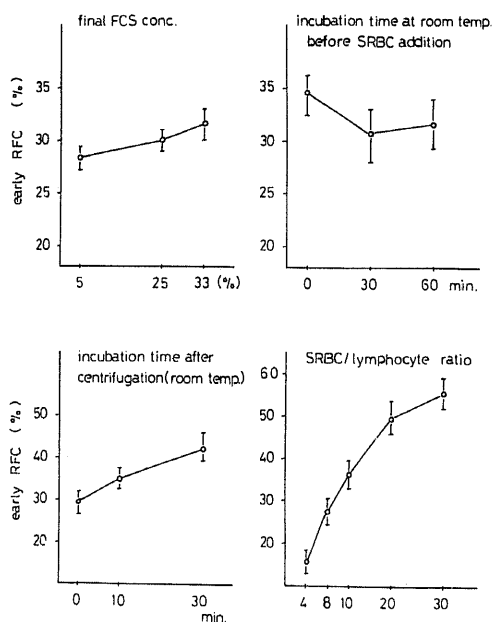


Fig. 2 Effect of Variations in Rosetting Condition on Early Rosette Test

4. 可溶性 extracts による SRBC fragments の抑制効果の阻害を図4, 表5に示した。また可溶性 extracts を作製する際のリンパ球の各 population の純度の検定結果は表4の如く, early RFC-enriched population にはearly RFCは60%にみられ, non-RFC population にはロゼット形成細胞は3%以下あった。また early RFC-depleted population には early RFC は5%以下であった。また late RFC-enriched population は細胞が十分に回収されず全例に行い得なかったが, 2例については early RFC の混入は4%以下であった。

その結果, 未分画リンパ球及び early RFC-enriched population より得られた extracts を SRBC frag-

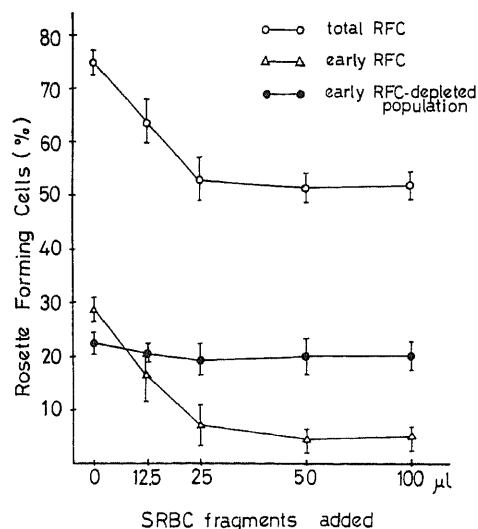


Fig. 3 Rosette Inhibition Assay with SRBC Fragments

Table 3. Rosette Inhibition Assay with SRBC Fragments

SRBC Fragments added (μ l)	total RFC [Mean $\pm$ SD (n = 6)]	early RFC [Mean $\pm$ SD (n = 6)]	RFC in early RFC-depleted population [Mean $\pm$ SD (n = 4)]
0	74.8 $\pm$ 2.3 (73 ~ 79)	28.7 $\pm$ 2.4 (25 ~ 31)	22.5 $\pm$ 2.1 (20 ~ 25)
12.5	63.8 $\pm$ 4.0 (56 ~ 67)	16.3 $\pm$ 4.6 (10 ~ 21)	20.5 $\pm$ 2.0 (18 ~ 23)
25.0	53.0 $\pm$ 4.1 (49 ~ 60)	7.2 $\pm$ 3.7 (3 ~ 12)	19.5 $\pm$ 2.9 (16 ~ 23)
50.0	51.2 $\pm$ 2.9 (48 ~ 55)	4.3 $\pm$ 2.2 (2 ~ 7)	20.0 $\pm$ 3.4 (16 ~ 24)
100.0	51.7 $\pm$ 2.5 (48 ~ 54)	4.6 $\pm$ 2.2 (2 ~ 8)	20.0 $\pm$ 2.6 (17 ~ 23)

ments とあらかじめインキュベートする事により、SRBC fragments の抑制効果の阻害がみられた。抑制の阻害と extracts の量の間には dose response がみられ SRBC fragments 100 μ l に対し25 μ l の extracts で抑制の阻害はほぼ plateau に達した。early RFC-depleted 及び non-RFC population より得られた extracts を SRBC fragments とあらかじめインキュベートしても抑制の阻害はほとんどみられなかった。また2例についてののみ行い得た late RFC-enriched population より得られた extracts でも抑制の阻害はほとんどみられなかった。他人より得られた extracts を使用しても同様の実験結果が得られた。図5には典型的な実験結果の1例を示した。

5. SRBC fragments と extracts を室温で20分間インキュベートし、37 $^{\circ}$ C で振盪溶出した後の SRBC fragments 及び上清を使用して同様の検討を行った。

(表6) この結果、溶出後の SRBC fragments でロ

ゼット形成は再び抑制され上清にて抑制の阻害がみられた。

考 按

マウスの末梢Tリンパ球は均一な細胞集団ではなく heterogeneity が存在する、との報告がこれ迄に多くみられる。すなわち膜表面上の θ 抗原量、抗胸腺血清及び radiation に対する感受性、life span、さらに種々の mitogen に対する反応性の差から2つの subset の存在が考えられている^{19)~25)}。ヒト末梢血Tリンパ球においてもマウスと同様に heterogeneity が存在する可能性が十分に考えられるが、マウスの θ 抗原に相当する特異抗原がヒトの場合には明らかでなく、その subset の検索をかなり困難なものとしている。

ところで、ヒトTリンパ球は SRBC と結合しロゼットを形成する事よりTリンパ球の同定法として広く利用されているが、Wybran らは SRBC とリンパ球

Table 4. Characteristics of Lymphocyte Populations

PBL- Extracts	early RFC Mean $\pm$ s. d.	total RFC Mean $\pm$ s. d.
unseparated (n=10)	28.7 $\pm$ 2.3 (25~31)	72.1 $\pm$ 3.6 (66~77)
early RFC-enriched (n=3)	55.7 $\pm$ 5.1 (50~60)	65.0 $\pm$ 4.3 (60~68)
early RFC-depleted (n=3)	4.7 $\pm$ 2.0 (3~7)	31.0 $\pm$ 2.0 (29~31)
late RFC-enriched* (n=2)	3.5 $\pm$ (3~4)	66.5 $\pm$ (65~68)
non-RFC (n=3)	0.3 $\pm$ 0.5 (0~1)	1.7 $\pm$ 1.2 (1~3)

*RFC were evaluated at the concentration of lymphocyte of 1×10^6 /ml.

Table 5. Effect of Lymphocyte Extracts on Rosette Inhibition by SRBC Fragments

soluble Extract added (μ l)	SRBC fragments added (μ l)	Extracts from PBL Populations			
		unseparated (Mean $\pm$ SD (n=10))	early RFC-enriched (Mean $\pm$ SD (n=4))	non-RFC (Mean $\pm$ SD (n=4))	early RFC-depleted (Mean $\pm$ SD (n=4))
0	0	72.1 $\pm$ 4.5	70.0 $\pm$ 3.1	68.5 $\pm$ 2.9	71.0 $\pm$ 3.6
0	25	54.0 $\pm$ 3.9	53.5 $\pm$ 3.0	52.7 $\pm$ 5.1	51.5 $\pm$ 4.2
0	100	51.5 $\pm$ 4.4	49.3 $\pm$ 1.0	50.8 $\pm$ 3.7	51.0 $\pm$ 3.4
10	100	59.3 $\pm$ 3.7	59.8 $\pm$ 3.3	53.3 $\pm$ 4.7	53.5 $\pm$ 2.6
25	100	68.4 $\pm$ 3.2	68.8 $\pm$ 5.9	53.8 $\pm$ 1.5	54.8 $\pm$ 4.1
50	100	70.9 $\pm$ 4.1	67.5 $\pm$ 1.9	53.8 $\pm$ 4.2	53.0 $\pm$ 4.2
100	100	71.6 $\pm$ 5.2	66.8 $\pm$ 2.6	54.0 $\pm$ 4.2	54.0 $\pm$ 4.5
250	100	71.9 $\pm$ 3.8	68.8 $\pm$ 3.3	53.3 $\pm$ 2.9	56.3 $\pm$ 1.7

の比を8:1とし、短時間インキュベートする事により検出されるTリンパ球を“active”あるいは“early”ロゼットと称した。これはSRBCと極めて親和性の高いsubpopulationであり、悪性腫瘍、virus疾患、SLEあるいは或種の免疫不全症において低値を示す事から細胞性免疫能をよく反映するpopulationであると報告した^{7)~9), 26)~28)}。さらに最近Felsburgらは²⁹⁾PPD skin test後に“active”RFCが増加し、これは遅延型皮膚過敏反応の結果と良く一致する事から、in vivoにおいて免疫学的にactiveなsubpopulationであろうと報告している。このようにearly RFCはSRBCと極めて親和性が高く、しかも生物

学的活性の高いTリンパ球のsubpopulationである可能性は十分に考えられよう。

しかしながら、このearly RFCを検出するearly rosette testは変動の激しい極めて不安定な方法であると考えられている。Woodyら¹²⁾はFCS濃度、インキュベーション時間、SRBCとリンパ球の比の変化によりその値に大きな変動がみられる事から、機能的な裏付けがない限りsubpopulationとするには多くの問題がみられるとし、Chisholmら¹³⁾もSRBCとリンパ球の比を変化させ片対数上に、また横軸にロゼット形成細胞の比率をプロットすると直線上に増加する事より、SRBCとリンパ球の比が小さい場合SRBCと親和性の高いTリンパ球を検出し得る可能性があるとしながらも8:1という比が特定のsubpopulationを検出しているものとは考えられないとし、early RFCの存在に疑問を投げかけている。著者の検討でもSRBCとリンパ球の比率、遠心後のインキュベーション時間の変化がこの結果に特に大きな影響を与え

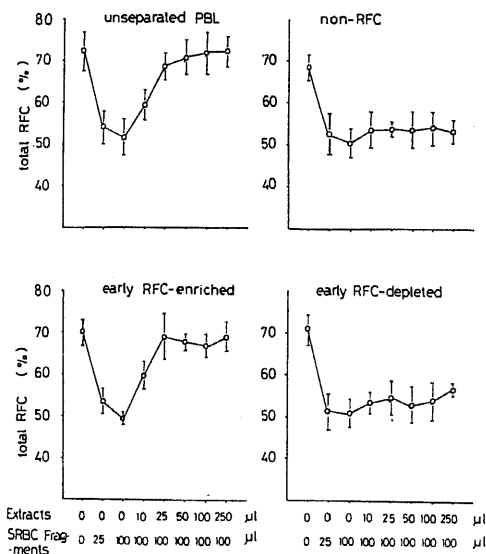


Fig. 4 Effect of Lymphocyte Extracts on Rosette Inhibition Assay by SRBC Fragments.

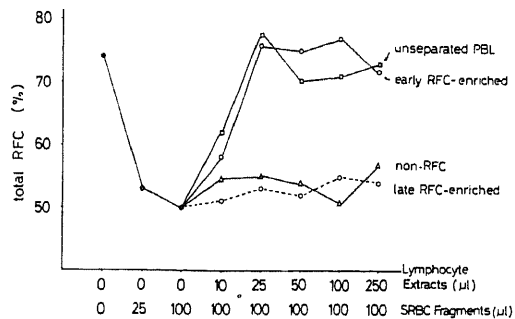


Fig. 5. Effect of Pretreatment of SRBC Fragments with Lymphocyte Extracts in the same Donor.

Table 6. Blocking Activity of Eluate from adsorbed SRBC Fragments in Rosette Inhibition Assay

SRBC Fragments added (μl)	Eluate (μl)	total RFC [Mean $\pm$ SD (n=5)]
0	0	72.5 $\pm$ 4.0 (67~76)
100	0	52.8 $\pm$ 4.7 (45~57)
100	250	72.8 $\pm$ 4.1 (68~78)
washed SRBC Fragments 100	0	58, 60

るものと考えられる。このように検出方法に多くの問題がみられる事から、基礎的に十分な裏付けがなされない限りTリンパ球の subpopulation としての位置づけにはなお疑問を抱かざるを得ない。

ところで、最近 Lohrman ら¹⁷⁾は Rhesus monkey の赤血球 (以下 MRBC) がヒトTリンパ球とロゼットを形成する事を報告している。そしてソニケーターにて破壊して作製した SRBC fragments が SRBC ロゼット形成を抑制するのに対して MRBC ロゼットを抑制しない事、またこの逆の現象もみられる事からTリンパ球上には SRBC, MRBC に対して異なったレセプターが存在し、しかも fragments の抑制は同じ赤血球に対して特異的である事、さらにこれらの fragments によるロゼット抑制は不完全でありそのロゼット形成の減少は26%, 29%であったとしている。また Bowles ら¹⁸⁾も犬のリンパ球を使用し同様の報告を行っている。

著者らは Lohrman らの実験において SRBC fragments によるロゼット形成の減少がヒト末梢血の early RFC の比率に酷似している点に着目し、SRBC fragments の early RFC に与える効果について検討を行った。その結果、SRBC fragments は early ロゼット形成をほぼ完全に抑制し、さらに early RFC-depleted population にはほとんど影響を及ぼさない事より、SRBC fragments の抑制効果は early RFC に特異的なものと考えられた。すなわち early RFC は SRBC と極めて親和性の高いレセプターを有したTリンパ球の subpopulation、であり、SRBC fragments と容易に結合しうるものと考えられよう。ヒト末梢血中には SRBC fragments の抑制効果の実験より、early RFC は平均23%存在しているものと考えられる。

ところで、Ryke ら³⁰⁾は 3M の KCl でTリンパ球を処理して得られた extracts を coat した SRBC を使用してロゼット形成を行った場合、coat しない SRBC の時より約25%のロゼット形成の抑制がみられる事、またBリンパ球より得られた extracts にはこのような効果はみられない事より、3M KCl によりTリンパ球から SRBC に特異的なレセプター活性を遊離し得るとしている。著者らは freeze-thawing により得られた extracts を SRBC fragments とあらかじめインキュベートし、SRBC fragments のロゼット形成の抑制にいかなる効果を与えるかを検討した所、early RFC-enriched population より得られた extracts には SRBC fragments のロゼット形成の抑制を阻害する活性がみられるのに対して、non-RFC

population, early RFC-depleted population より得られた extracts にはこのような活性はほとんどみられなかった。ただ問題点として、可溶性 extracts を作製する際に、SRBC を0.83% NH₄Cl-トリス緩衝液で溶血している為に extracts 中に SRBC ghost あるいは fragments が残存しこれが実験に向らかの影響を与えている可能性も否定できない。しかしながらもし 残存していたとしても 極めて 微量である事、また freeze-thawing により活性が消失している事、さらに20,000×gの遠心操作によりかなり除去される事から、extracts 中の fragments はまず無視して差し支えないであろうと思われる。以上の結果は early RFC より得られた extracts にのみ SRBC fragments に対して極めて親和性の高いレセプター活性が存在する事を意味する。すなわち early 及び late RFC の膜表面上の SRBC レセプターの間には量的あるいは質的な差が存在する事を示唆するものと考えられる。Yu ら⁷⁾は SRBC ロゼットの37℃での cap 形成を early 及び late RFC について検討し、後者にその比率が高い事、さらにトリプシン、ノイラミダーゼでリンパ球を処理すると late RFC の cap 形成は減少し early RFC の cap 形成率に近づく事より、この2つの population の SRBC レセプターの分布状態に差異が存在すると共に膜表面上の sulphhydryl 及びシアル酸量に差がみられる事を指摘している。さらに Owen ら³¹⁾³²⁾は SRBC レセプターに対する抗血清を作製、これを使用した蛍光抗体法によりTリンパ球の約40%が高い密度の SRBC レセプターを有していると述べている。これらはいずれも、Tリンパ球の中においても SRBC レセプターの分布状態あるいは密度に差異がある事を示唆する所見と言えよう。

以上、ヒト末梢Tリンパ球には SRBC に対する親和性及び膜性状の違いにより2つの Subpopulation、すなわち early RFC と late RFC、が存在するものと考えられる。現在の所 SRBC レセプターの量的な差か質的なものかは不明であるが、SRBC fragments を immunoadsorbent として SRBC レセプターの部分的精製が可能となれば、より一層明らかにされるものと考えられる。

結 論

early RFC の検出方法である early rosette test はその条件のわずかな変動により、その値に大きな変化が生ずる不安定なものであると考えられる。特にS RBC とリンパ球の比、遠心後のインキュベーション

時間が最も大きな影響を与える。それゆえこの方法で検出される細胞をTリンパ球の subpopulation と呼ぶには基礎的に十分な裏付けと、機能面での説明がなされる事が必要であろう。本報ではまず early RFC の SRBC に対する親和性について検討し次のような成績を得た。

1. SRBC fragments によるロゼット形成の抑制効果を検討した所, early ロゼット形成がほぼ完全に抑制された。また early RFC-depleted population では抑制はほとんどみられない事より, SRBC fragments による抑制は early RFC に特異的なものと考えられる。すなわち early RFC は SRBC 及びその fragments に対して極めて親和性の高いレセプターを有するTリンパ球の subpopulation と考えられる。

2. freeze-thawing により得られたリンパ球 extracts を SRBC fragments とあらかじめインキュベートし抑制効果に与える影響について検討した所, early RFC-enriched population より得られた extracts にのみ SRBC fragments の抑制効果を阻害する活性がみられた。すなわちこの extracts にのみ SRBC fragments と極めて親和性の高いレセプター活性が存在するものと考えられる。これは early RFC と late RFC のリンパ球膜表面上の SRBC レセプターの間に量的あるいは質的な差異が存在する事を示唆しているものと思われる。

3. 可溶性 extracts と SRBC fragments を反応させた後37℃で振盪溶出した上清にレセプター活性が遊離する事より SRBC fragments を immunoadsorbent として生物学的活性を失う事なしに活性物質を抽出し得る可能性のある事が示唆された。

References

- 1) Fröland, S. S. : Scand. J. Immunol. 1, 269 (1972).
- 2) Lay, W. H. : Nature 230, 531 (1971).
- 3) Jondal, M. et al. : J. Exp. Med. 136, 207 (1972).
- 4) Wybran, J. et al. : J. Clin. Invest. 51, 2537 (1972).
- 5) Benwich, Z. et al. : Clin. Immunol. Immunopathol. 1, 511 (1973).
- 6) Brain, P. et al. : Clin. Exp. Immunol. 6, 681 (1970).
- 7) Yu, D. T. Y. : J. Immunol. 115, 91 (1975).
- 8) Horowitz, S. et al. : Clin. Immunol. Immunopathol. 4, 405 (1975).
- 9) Wybran, J. et al. : New Engl. J. Med. 288, 710 (1973).
- 10) Wybran, J. et al. : J. Clin. Invest. 52, 1026 (1973).
- 11) Davis, R. H. et al. : J. Pediat. 87, 449 (1975).
- 12) Woody, J. N. : J. Immunol. Methods 8, 331 (1975).
- 13) Chisholm, R. H. et al. : J. Immunol. 116, 1397 (1976).
- 14) Report of WHO. : Scand. J. Immunol. 3, 521 (1974).
- 15) Gupta, S. et al. : Lancet 2, 954 (1974).
- 16) Wybran, J. et al. : Lancet 1, 126 (1973).
- 17) Lohrman, H. P. et al. : Clin. Immunol. Immunopathol. 3, 99 (1974).
- 18) Bowles, C. H. et al. : J. Immunol. 114, 399 (1975).
- 19) Stobo, J. D. et al. : J. Immunol. 108, 1 (1972).
- 20) Stobo, J. D. et al. : Cell. Immunol. 4, 367 (1972).
- 21) Stobo, J. D. et al. : J. Immunol. 110, 362 (1973).
- 22) Bach, J. F. et al. : Cell. Immunol. 3, 11 (1972).
- 23) Dutton, R. W. : J. Exp. Med. 138, 1496 (1973).
- 24) Kappler, J. W. et al. : J. Immunol. 113, 27 (1974).
- 25) Araneo, B. A. et al. : J. Immunol. 114, 747 (1975).
- 26) Wybran, J. et al. : New Engl. J. Med. 288, 1072 (1973).
- 27) Fudenberg, H. H. et al. : New Engl. J. Med. 292, 474 (1975).
- 28) Yu, D. T. Y. et al. : Arthritis Rheum. 17, 37 (1974).
- 29) Felsburg, P. J. et al. : J. Immunol. 116, 1110 (1976).
- 30) Pyke, K. W. et al. : J. Immunol. 115, 211 (1975).
- 31) Owen, F. L. et al. : J. Immunol. 115, 765 (1975).
- 32) Owen, F. L. et al. : Immunochemistry 13, 121 (1976).

A b s t r a c t

The "early or active rosette test" (Wybran & Fudenberg) is widely used in clinical immunology to determine a possible subpopulation of human peripheral T lymphocytes. This test probably identified only the subpopulation that has the receptors of high affinity for sheep red blood cells (SRBC). However, the exact rosetting characteristics of early rosette-forming cells (early RFC) of human T lymphocytes remain to be elucidated. In the present work, the rosetting ability of early RFC was investigated by the rosette inhibition effect of SRBC fragments, either non-treated or pretreated with soluble extracts of lymphocytes.

1) The effect of SRBC fragments on E rosette formation of human peripheral T lymphocytes was evaluated on the early and total T-rosette tests. The rosetting capacity of early RFC was selectively and nearly completely inhibited by the pretreatment of lymphocytes with SRBC fragments. The decrease in total rosette by blocking with SRBC fragments was almost parallel to that of early rosette. SRBC fragments had no inhibitory effect on the rosetting capacity of a lymphocyte population in which early RFC were removed by rosette sedimentation technique.

2) A soluble extract of each population, namely early RFC-enriched, early RFC-depleted, late RFC-enriched, and non-RFC, was prepared by extensive freeze-thawing in phosphate-buffered saline and the activity of each extract was assayed with the blocking effect on E rosette inhibition by SRBC fragments. This blocking activity was identified in the extract from the population enriched with early RFC, but not in the extracts from the other cell populations.

These results suggest that early RFC may be a subpopulation which has the receptors of high affinity for SRBC and these receptors are readily bound to SRBC fragments, presumably to intact SRBC. The active materials on early RFC, although dissociated from the cells, retain their ability to be bound competitively to SRBC fragments. However, whether SRBC receptors of early RFC are different in their distribution on cell surface or in their structural conformation from those of late RFC is yet to be known.
