

免疫電顕的に検索を行つた。対象は、ARA 診断基準を満たす SLE 妊娠群10例—妊娠初期3例(人工妊娠中絶例)中期1例(自然流産例)、末期6例(生児分娩例)で、対照群として、正常妊娠群、各々5例の絨毛を使用した。蛍光抗体法(抗ヒト IgG, IgM, ならびに C1q, C3, C4 家兎 FITC 標識抗体, 4 μ . 直接法, 患者血清, 対照群血清, 健康成人非妊娠婦人, 男性血清使用の組み合せ間接法)にて、SLE 妊娠中絶例で、合胞細胞表面に、不規則性の腺状～小顆粒状の蛍光が、IgM, C3 と時に IgG と、核には IgG, C1q, C4 と時に IgM と基底膜には IgG, C1q, C3 と時に C4 と SLE 生児分娩例では、合胞細胞表面に、IgG, C3 と核には IgG, C1q と、基底膜には IgG と反応性を有す物質の局在が認められ、SLE の多彩な病型の存在をうかがわせた。正常妊娠例では、合胞細胞表面に IgG で弱い蛍光をみるものもあつたが、基底膜には、認めなかつた。無標識抗体による吸収、抑制試験を行う一方、DNA (1mg/ml)、熱変性 DNA (0.5mg/ml) による吸収試験を行ない蛍光の減光(殊に IgG で)を確認した。直接法実施前に、2M NaCl 37°C 1時間、0.02M クエン酸緩衝液 pH3.2, 37°C 2時間、D Nase I (0.4mg/ml) 37°C 2時間にて前処理を行ない、蛍光の消失を確認した。更に、PBS ならびに、Triton X-100, 1%溶液中に、24, 48, 72 時間浸漬後、染色し、PBS に比べ Triton X-100での蛍光の高度な減光を認めた。電顕用標本を、型の如く、透過型、走査型用と、免疫電顕用(PLP, Zamboni 固定、凍結もしくは、Acrylamide 包埋、Ferritin 標識)とした。合胞細胞自由面の微絨毛は膨大傾向を示すものの細胞内小器官の特述すべき像ならびに特殊な構造的の存在は認めなかつた。免疫電顕法では IgG で合胞細胞表面の微絨毛に不規則な分布を示す Ferritin 像を認めた。

質問 (京都・亀谷医院) 亀谷 謙

蛍光抗体の写真は会場を真暗にしていたと聞かないと局在がはつきり分りません。ところで蛍光抗体法にしる、免疫電顕にしる、沢山の種類の抗原の局在性をお見せいただいたと思いましたが、どの所見が SLE の病態解明にどのように一番役立つのかお教え願いたい。

回答 (北里大) 安達 英夫

本予備試験は、whole antibody を用いているため、FcR, C3bR に対する特異性に対しては言及していない。

現在では、SLE で多くの患者が生児を得ている。SLE に複数の病型があると言つたように必ず SLE

妊娠の胎盤側に抗原もしくは交叉反応性を有す物質が出現する訳ではない。

やはり、血清側にその強い反応性を有する物質が出現するような病型の場合にのみ、自然流産が生ずるものであろう。合胞細胞表面 S-L 細胞核(周囲)基底膜いずれにも強い所見が出現することより、J.S. Scott らのいうように IgG の致死の抗体の経胎盤移行と亦 S 細胞表面の補体消費性の IgG, IgM の沈着とにより二次的に子宮収縮能が高まるのであろう。

質問 (名古屋市大) 森永 正文

非 SLE 妊娠の胎盤絨毛との比較は、(とくに自然流産絨毛例との比較)

回答 (北里大) 安達 英夫

少数の同一症例の実例しか、お見せしなかつたのは、免疫学的には、生児分娩より、流産の方が興味深いためです。正常例では、FcR, C3bR のためであらうが、抗 IgG, C3 抗体で、合胞細胞表面に散在性の弱い線状蛍光を認めますが SLE の場合は、特に流産の場合には蛍光は全体的に強く生児分娩には弱い、という事実はある。それと FcR, C3bR との関係が今回の予備試験では識別できない訳である。今後は量的なものから質的なものの解析を行う必要があると述べたのです。(なお、スライド1で示した酵素抗体法は胎盤に内因性ペルオキシダーゼ活性強く実施は現在していません。)

61. 子宮頸癌患者の末梢血並びに腫瘍局所におけるリンパ球 subsets の動態に関する研究

(岐阜大)

山際 三郎, 伊藤 昭, 森 秀弘

山田 新尚, 白木信一郎, 野田 克己

monoclonal 抗体を用いて子宮頸癌患者末梢血リンパ球 subsets の量的変動と所属リンパ節における単核細胞浸潤を同時に検索し、癌増殖局所の免疫担当細胞の動態が、全身性変化たるリンパ球 subsets の量的変動と如何なる関連を有するのか解析せんと試みた。

子宮頸癌患者14名を対象として、monoclonal 抗体 [OKT3 (以下 T3)・T4・T8・Ia1] を用いた蛍光抗体間接法により、① 末梢血リンパ球 subsets は、Cytofluorograf にて定量し、全リンパ球に対する T3⁺ 細胞、全 T3⁺ 細胞に対する T4⁺・T8⁺ 細胞、全 T 細胞に対する Ia1⁺ 細胞の比率を算定すると同時に、② 所属リンパ節および腫瘍局所においては凍結切片を作成、蛍光染色後それぞれの浸潤状態 (severe・mild・moderate・absent の4段階に分類) を観察した。

健康正常人における末梢血中 T3⁺・T4⁺・T8⁺・Ia1⁺

細胞は、それぞれ平均68.4%・53.5%・34.8%・12.3%であった。一方子宮頸癌では、T3⁺細胞比は初期癌では正常もしくは増加、進行癌では減少する傾向がみられ、またそれは癌増殖局所での出現状況と概ね一致していた。T4⁺細胞比は、初期癌、進行癌共にあまり差がみられず、癌増殖局所への出現状況と一定の傾向は認められなかった。T8⁺細胞比は、進展度に伴いやや上昇し、癌増殖局所への出現が極めて少ない症例も認めた。Ia1⁺細胞比では、一様でなく、各ステージで増加する症例もみられ、癌増殖局所への出現と一定の傾向は得られなかった。また所属リンパ節癌転移部を取り巻く T3⁺細胞を観察すると、あたかも、リンパ節への転移癌は、原発部位である癌増殖局所での初期癌の様相を呈していた。

以上、monoclonal抗体を用いた癌増殖局所並びに末梢血中でのリンパ球 subsets の解析により、癌進展に伴う、末梢血中T細胞数の減少と癌増殖局所T細胞浸潤の減少とが推測された。

質問 (大阪大) 平松 恵三

① リンパ節における OKT4⁺、OKT8⁺ の分布および密度について教えて下さい。

② Ia1⁺細胞比は、SRBCにて purification したTに対するものか、T3にて purification したTに対するものか。

回答 (岐阜大) 山際 三郎

① 症例数が少く未だ傾向もつかめませんが、I、II期症例で腸骨間リンパ節を検討すると、傍皮質部位で、T4陽性細胞が比較的多く出現する症例がみられました。

② Ia1陽性細胞比は、Neuraminidase 羊赤血球沈降法にて得られたT細胞によつて purification したものに対する%です。

質問 (札幌医大) 神谷 博文

① 固定法としてメチルアルコールを使用していますが、我々の経験ではT細胞亜群の抗原性を失活する。この固定法での他の文献がみられるか。

② OKT4とOKT8での腫瘍周辺における distributionでの差はあったか。

回答 (岐阜大) 山際 三郎

① スライド中では略しましたが、御指摘のように、冷アルコールでの固定での成績が悪いため、冷アセトン固定をしております。

② OKT4・T8陽性細胞での腫瘍周辺における distributionの差は、今回の結果からは認められませんでした。

した。今後、症例数を増やし検討したいと考えます。

62. 婦人科悪性腫瘍患者における細胞電気泳動試験 (神奈川・三菱重工大倉山病院)

山田 正興、吉田雄一郎

研究目的：ある抗原に感作されたリンパ球に特異抗原を添加すると、種々の生物学的活性を有する因子が放出され、この因子はモルモットマクロファージの電気泳動を遅延させることから、Macrophage slowing factorもしくはElectrophoretic slowing factorと呼ばれ、lymphokinesの一種と考えられている。しかしながらマクロファージの電気泳動的不均一性が指摘され、電気泳動的均一性に注目し、indicator cellとしてタンニン酸羊赤血球を使用し、婦人科悪性腫瘍患者について、タンニン酸羊赤血球電気泳動による易動度の変化について検討した。

方法：健常者35例、良性腫瘍患者23例、悪性腫瘍患者105例より比重遠心法により単核球を分離、特異抗原としてcancer basic proteinとして知られている成人脳組織より抽出したencephalitogenic protein (E.A. Caspary)を使用。各々の単核球について、一方には抗原添加、他方には抗原無添加とし、37°C、60分 incubate。lymphokinesを放出させ、その後の上清とタンニン酸羊赤血球を37°C、60分 incubate し、lymphokinesを羊赤血球に吸着させて電気泳動を行つた。タンニン酸羊赤血球はStavitskyの方法により作成、電気泳動装置はCytopherometer (Zeiss)を使用、泳動条件は23°C、300V、顕微鏡Fでタンニン酸羊赤血球が一定距離移動する時間を測定。泳動遅延率は $(te - tc / tc) \times 100$ で表現し、泳動遅延率7%以上を陽性と判定した。(te：抗原添加リンパ球上清による泳動時間、tc：抗原非添加リンパ球上清による泳動時間)

成績：健常者、良性腫瘍患者、悪性腫瘍患者各々の陽性率は2.9%、8.7%、88.6%と悪性腫瘍患者において有意の易動度差を認めた。又、悪性腫瘍患者においては病期進行に伴ない遅延傾向を認め、再発例においても有意の遅延を認めた。

まとめ：lymphokinesの産生を電気泳動的に検索し、癌患者の免疫動態を知る一手段として臨床的に有用と思われた。

追加 (日本医大) 大川 公康

抗原は各臓器の癌より抽出したものについてはそれぞれの例に陽性率が高いが脳より抽出した物質は何れの癌例でも陽性率が高いので脳より抽出した抗原を用いた。