

さらに詳細な検討をして、御報告いただければ幸いに在じます。

② 単球の変動、特に Ia 指原陽性細胞の変動が胎児側の抗原対応とするならば、胎児側の抗原が一定しているとは考えられないので、Ia 陽性細胞も変動するのではないのでしょうか。

110. 正常妊娠及び切迫流産における末梢 Ia 様抗原陽性 T リンパ球の検討

(名古屋市大)

山本 恭史, 石丸 忠敬, 片平 智行
高木 孝, 八神 喜昭

目的：ヒト DR 遺伝子座によつてコードされる DR 抗原は、ヒトにおける Ia 様抗原と考えられ免疫学的に活性化された T リンパ球にも Ia 様抗原が存在し、免疫応答反応において重要な役割をもつと考えられている。今回我々は妊娠及び切迫流産における免疫学的関与を検討するため、単クローン抗体を用いて間接蛍光抗体法及び indirect antiglobulin rosetting reaction (IARR) 法にて末梢血中の Ia 様抗原陽性 T リンパ球 (Ia⁺T 細胞) を測定したので報告する。

方法：T リンパ球は、ロゼット法を用いて分離し

98%以上の純度で得られた。単クローン抗体は OKIa1 を用い、FITC 標識抗マウス抗体による間接蛍光抗体法及び、指示細胞としてウシ赤血球を用いる IARR 法によつて Ia⁺T 細胞を同定した。Ia⁺T 細胞は全 T リンパ球に対する比率で表わした。

成績：健康非妊婦15例の間接蛍光抗体法と、IARR 法での検討では、前者 $1.8 \pm 1.6\%$ 後者 $4.2 \pm 2.9\%$ と IARR 法で高い検出率を示した。そこで、IARR 法により妊婦末梢血を検討した結果、妊娠前期 $7.9 \pm 3.2\%$ 中期 $9.6 \pm 4.7\%$ 後期 $6.0 \pm 3.0\%$ と非妊婦に比し、前期 ($p < 0.005$) 及び中期 ($p < 0.001$) において Ia⁺T 細胞の有意な増加を認めた。又切迫流産群では $11.5 \pm 5.1\%$ と前期正常妊婦に比し有意な増加 ($p < 0.02$) を示した。

独創点：従来 Ia 様抗原の検出には間接蛍光抗体法が一般的に用いられてきたが、今回我々の用いた IARR 法は蛍光抗体法より感度が優れているとされ、この方法により妊婦末梢血中の Ia⁺T 細胞の有意な変動を認め、妊娠及び流産現象に免疫学的機序が関与することを強く示唆する結果を得た。

第19群 免疫 IV (111~116)

111. 抗 T リンパ球単クローン抗体を用いたロゼット抑制試験による Early Pregnancy Factor の証明

(秋田大)

五十嵐信一, 関 守利, 真木 正博

目的：妊婦血清中に受精後早期から出現すると Morton らが、提唱する免疫抑制因子 Early Pregnancy Factor (EPF) を、単クローン抗体を導入したロゼット抑制試験により測定し、ヒトでの正常・異常妊娠における免疫抑制能の動態を観察し、さらにマウス体内・体外受精系で EPF の出現時期、origin を明らかにする。

方法：被検血清について、抗 T リンパ球単クローン抗体を導入したロゼット抑制試験を施行し、ロゼット形成率がコントロールの75%以下となる抗体の最大稀釈倍数を Rosette Inhibition Titer (RIT) とし、免疫抑制の指標とした。

成績：ヒトにおいて RIT は、非妊時 $1/2 \sim 1 \sim 10^3$ に対し、1st, 2nd trimester の妊婦は $8 \sim 32 \times 10^3$ と有意

に上昇し、3rd trimester では正常化した。治療的流産後18~24時間で RIT は下降した。

流産・妊娠中毒症・妊娠悪阻で RIT は低下し、これらにおいて免疫学的妊娠維持機構の変化が示唆された。

妊娠マウス血清は、マウス脾細胞—ヒト赤血球系でも、ヒトリンパ球—羊赤血球系でもロゼット形成を抑制し、EPF が少なくとも一部で種非特異的作用のあることが示唆された。

EPF は交配後8時間でマウス血清中に出現し、term の4日前に消失した。体外受精系では2細胞期の培養液中に EPF の作用が検出された。trophoblast 形成以前にこうした作用が認められることは、受精後着床までのごく早期の免疫抑制に EPF が役を演じていることを示すものであろう。また、EPA が受精卵の因子のみで出現することが示唆された。

独創点：抗 T リンパ球単クローン抗体を導入することにより、従来の抗リンパ球ウサギ血清を用いる方法

より特異的で安定したロゼット抑制試験を施行し、またマウス体外受精系を用いて EPF が受精卵因子のみで、trophoblast 形成以前に産生されることを証明した点。

質問 (兵庫医大) 繁田 実

① マウスの受精卵培養液中に Detect できた factor (EPF?) の Characterization をされたか?

② マウスの EPF をヒト RIT に加えた時の RIT 値が、血清希釈倍数の低い所からすでに低値であるのは何故か?

質問 (兵庫医大) 香山 浩二

① マウス血中及び in vitro 受精卵培養液中の EPF 測定にヒト EPF 測定系を用いられておりますが、この系で検出される rosette inhibition factor には Morton らのいう EPF とは異なっている可能性がありますね、といいますのは、Morton らのマウス EPF 測定系は抗マウスリンパ球血清とヒト赤血球を用いている点ともう一点は Morton らのいう EPF は egg factor の他に、tube factor とか pituitary factor (PRL) が関与して初めて EPF 活性が出てくるという結果ですが、先生の実験結果では、受精卵そのものから EPF 活性が出てくるという結果ですね。

② 妊婦血中 EPF に関してですが、先生の用いられた被検血清はかなり妊娠が進んでからの血清ですので、immunosuppressive 作用をもつた他の因子、例えば hCG, Zona protein, α -FP etc が関与している可能性はないのですか。

回答 (秋田大) 五十嵐信一

① 受精卵因子のみで産生される免疫抑制物質が、Morton の言う EPF と完全に一致しない可能性はあると思います。

② dose dependency について、また検討中の dose と抗体価の order との関係については、まだ検討していません。

112. Sephadex G-200にて分画された妊娠血中免疫抑制因子とその免疫学的性状の解析

(愛知医大)

戴下 広光, 沢口 啓造, 中北 武男

伊藤 祐正, 中西 正美, 石原 実

目的: 妊娠の維持には、非妊娠時にはない液性因子による免疫調節機構の存在が考えられる。ADCC (antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity) は、液性抗体に依存するリンパ球機能であり、この反応系を用いて、Sephadex G-200で分画された妊娠血中

因子の免疫抑制能を検討し、それらの免疫学的性状の解析についても検討した。

方法: ① 被検検体は、初期正常妊婦非働化血清を用い、対照として、非妊婦非働化血清を用いた。② Sephadex G-200によるゲル濾過は、 $1.6 \times 90\text{cm}$ のカラムを用い、 0.05M Tris HCl Buffer (pH 7.4) で溶出し、4つの蛋白分画が得られた。③ ADCC 抑制能は、O型健常男子リンパ球に、同一蛋白濃度に調製した各溶出液を加え、培養処理後の ADCC の変化により検討した。④ OX-EA (IgG) を用いた EA roset 法により抑制因子の Fc-receptor 結合性を検討した。各溶出液を加え培養処理後のリンパ球を PBS で3回洗浄し、洗浄処理前後の EA roset 形成細胞率を比較し、その阻止能を検討した。⑤ PEG (Polyethylene glycol 6000) 沈降処理は、 12.5% (w/w) PEG で、第1分画溶出液を 4°C 1時間反応させた後、 $1000 \times g$ 4°C 1時間遠心し、その上清を PEG 沈降処理検体とした。

成績: ① 初期正常妊婦血清の Sephadex G-200ゲル濾過で得られた4つの分画のうち、第1分画と第3分画の溶出液で、非妊婦血清にはない抑制能を認めた。② 第1分画溶出液中の因子は、EA roset 形成を阻止し、PEG 沈降処理にて抑制能を失活した。③ 第3分画溶出液中の因子は、EA roset 形成阻止能が洗浄により減弱した。

総括: 初期正常妊婦血清中 ADCC 抑制因子は、Sephadex G-200ゲル濾過の第1分画と第3分画に認められ、第1分画中因子は高分子量で Fc-receptor 結合性を有し、第3分画中因子は、Fc-receptor 結合性が弱かった。初期正常妊婦の ADCC は、作用機序の異なる2つの因子によつて抑制されていることが示唆された。

質問 (大阪大) 松崎 昇

1. Fc-binding protein (第1分画) の origin はどこから来るのか? 胎盤由来の Fc γ receptor を考えると無理があるか?

2. ADCC での抑制をみていますが、他の免疫反応で検討された事がありますか?

3. 精製の方はどこ迄進んでいますか? 又第1分画は第3分画が aggregation したものでしょうか? 相互の関係はどうかつていますか?

質問 (東北大) 山口 祐

各 Fraction のおよその molecular weight はどの程度か?

質問 (日本大) 山本 樹生