

健常者に認められた OKT 4 細胞欠損の 1 例

大久保喜雄¹⁾ 中田真佐雄¹⁾ 草間 昌三¹⁾

長谷川康久²⁾ 緒方 洪之²⁾

1) 信州大学医学部第 1 内科学教室

2) 信州大学附属病院輸血部

A Case report of Lack of OKT 4 antigen in a Healthy Man

Yoshio OKUBO¹⁾, Masao NAKATA¹⁾, Shozo KUSAMA¹⁾,
Yasuhisa HASEGAWA²⁾ and Hiroyuki OGATA²⁾

1) *Department of Internal Medicine, Shinshu University School of Medicine*

2) *Transfusion Service, Shinshu University School of Medicine*

A lack of OKT 4 (helper/inducer T) antigen on lymphocytes was found in a healthy 36-year-old male. The other antigens on lymphocytes including Leu 3a (helper/inducer T) were detected by using various monoclonal antibodies specific for T subsets, B cells and natural killer cells. High lymphocyte proliferative responses were observed against phytohemagglutinin-P, concanavalin A and purified protein derivative. The natural killer activity of this case was equally to that of age-matched controls. Further, immunoglobulin levels (IgG, IgM, IgA) were within the normal range. These data suggest that, in this case, one of the epitopes of the helper/inducer T cells does not exist on the lymphocytes. *Shinshu Med. J.*, 34: 253-257, 1986

(Received for publication December 16, 1985)

Key words: OKT 4, monoclonal antibody, healthy man

OKT 4 細胞, モノクローナル抗体, 健常者

I 緒 言

免疫されたマウス脾細胞と myeloma 細胞を細胞融合して、ヒト末梢血に存在する T 細胞¹⁾⁻³⁾, suppressor/cytotoxicity T 細胞⁴⁾⁵⁾, helper/inducer T 細胞⁶⁾, B 細胞⁷⁾⁸⁾, 単球/マクロファージ, natural killer (NK) 細胞⁹⁾¹⁰⁾ に対する各種 monoclonal 抗体 (mAb) が作成されている。さらにこれらの各 mAb によって認識された細胞は種々の免疫学的機能を有することが認められている。今回われわれは免疫グロブリン値に異常を認めず tuberculin reaction (TR) 陽性である健常者において、B 細胞の免疫グロブリン産生

に対して補助作用を有する OKT 4 (helper/inducer T) 細胞欠損を認めたので報告する。

II 対象および方法

対象は輸血供血者 (36歳, 男性) で TR 陽性の健常者である。

1) 表面抗原の解析: 末梢血リンパ球の表面抗原の解析は Stephan ら¹¹⁾ の全血法およびわれわれがすでに報告した方法¹²⁾ によった。略述すると全血法は 100 μ l のヘパリン加末梢血を 10 μ l の蛍光色素標識の各 mAb と室温で反応させ、その後等張の NH₄Cl により赤血球を除去した。10分後に flow cytometry (EPI-

CS V) (Coulter CO., USA) を用いて蛍光陽性細胞を算出した。一方末梢血より lymphoprep (Nyeg-aard Co., Oslo, Norway) を用いて分離した単核球 (1×10^5 : $100 \mu\text{l}$) は各種精製 mAb ($5 \mu\text{l}$) と水中30分間反応させ、1回 phosphate buffered saline (PBS) で洗浄後 FITC 標識ヤギ抗マウス IgG または IgM 抗体 (Tago Inc., CA.) で30分間水中で反応させ、2回 PBS で洗浄した。その後蛍光顕微鏡下で細胞200-300観察し、蛍光陽性率を算出した。

2) リンパ球増殖反応: 分離した単核球 (1×10^5) を phytohemagglutinin-P (PHA-P) (Difco Co., MI., USA) $15 \mu\text{g}$, concanavalin A (Con A) (Sigma Co., MO., USA) $2 \mu\text{g}$ または purified protein derivative (PPD) (日本 BCG Co., Tokyo) $2.5 \mu\text{g}$ 添加群と非添加群に別け、それぞれ triplicate 作成し、PHA-P, Con A は72時間、PPD は120時間 37°C , $5\% \text{CO}_2$ 存在下で培養し、培養終了20時間前に ^3H -thymidine (NEN Co., USA) $0.5 \mu\text{Ci}$ を加えて DNA 合成能を測定した。

3) Natural killer 活性

分離した単核球 (effector) (1×10^5) を ^{51}Cr 標識の K562 (target) をE/T比10:1または30:1で 37°C , $5\% \text{CO}_2$ 存在下で4時間培養し、 ^{51}Cr release assay 法¹³⁾ により算出した。

4) 免疫グロブリン

Laser nephrometer (Behring Werke, FDR) により測定した。

III 結 果

本例の免疫学的パラメータの解析結果は Table 1 に示した。Tリンパ球では OKT 3 (pan T), Leu 1 (pan T) 細胞陽性率がやや低値を示したが T11 (E-rosette 形成細胞) 陽性率は正常値を示した。Tリンパ球サブセットでは OKT 8 細胞陽性率は正常値を示し、Leu 3a 陽性細胞は正常範囲であった。しかし、OKT 4 細胞はまったく認められず、再検査を1カ月後におこなったが同じ結果を得た。この結果は Fig. 1 に示すとおりである。すなわち横軸に蛍光強度、縦軸に細胞数を表示してあるが Leu 3a 陽性細胞が認められるにもかかわらず、OKT 4 陽性細胞はまったく認めることができなかった。一方本例は OKT 4 細胞 (helper/inducer T) を欠損していたが免疫グロブリン (IgG, IgM, IgA) はすべて正常値を示した。さらに T細胞機能測定のために PHA-P, Con A, PPD 添加によるリンパ球増殖反応を施行したがコントロールと比較して差を認めず、良好な反応を示した。なお生体の1つの免疫学的パラメータである NK 活性は年齢を合わせたコントロールと差を認めなかったが、

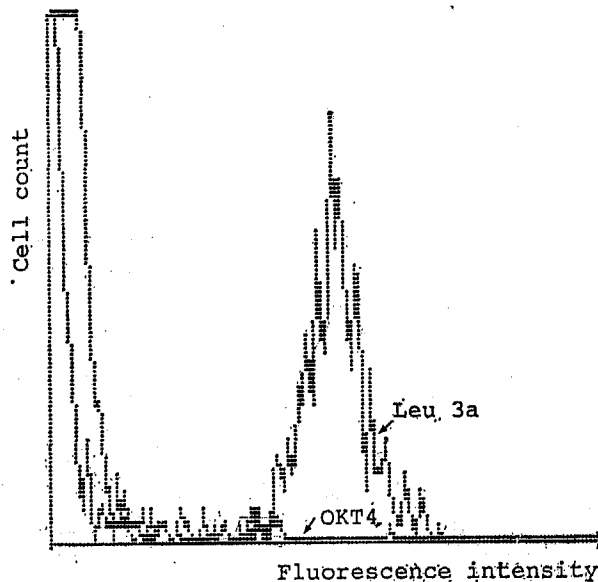


Fig. 1 Two cell type comparison using flow cytometry

Table 1 Immunologic parameters

Phenotypic analysis (%)		
	Case 1	Control
T11(E-rosette)	74	73±14(N=42)
OKT3(pan T)	43	64±14(N=42)
OKT4(H/I) ¹⁾	0	37±14(N=42)
OKT8(S/C) ²⁾	20	23±13(N=42)
Leu 1(pan T)	42	59±9 (N=40)
Leu 3a(H/I)	36	37±7 (N=40)
BI(B)	7	9±6 (N=31)
HLA-DR (B/monocyte)	3	12±8 (N=31)
Leu 7(NK)	44	18±9 (N=11)
Leu 11(NK)	42	18±9 (N=11)
Lymphocyte proliferative response (Δ cpm) ³⁾		
	Case 1	Control
PHA-P	102,451	120,149±33,301(N=13)
Con A	86,797	71,334±23,816(N=13)
PPD	21,876	25,881±14,780(N=13)
Immunoglobulin (mg/dl)		
	Case 1	Control
Ig G	1,150	1,174±249(N=11)
Ig A	249	192±69 (N=11)
Ig M	189	145±76 (N=11)
NK activity(%)		
	Case 1	Control
T/E(1:10) ⁴⁾	17	18±7(N=6)
T/E(1:30)	22	22±5(N=6)

- 1) helper/inducer T
- 2) suppressor/cytotoxicity T
- 3) (lymphocyte responses induced by mitogen or antigen)-(medium alone responses)
- 4) target effector ratio

NK 細胞陽性率はやや高値を示した。

IV 考 案

今回免疫不全を示さない健常者リンパ球の表面抗原の解析をおこない helper/inducer 能を持つリンパ球の表面抗原である OKT 4 抗原が欠損している例を認めた。この OKT 4 抗原欠損例の報告は最近 leprosy¹⁴⁾や osteosarcoma¹⁵⁾においてなされ、本例では家系調査を施行してないがこの欠損は遺伝的要因によ

ることが推定されている。一方免疫グロブリン産生において OKT 4 細胞は B 細胞の免疫グロブリン産生を補助する作用を有することが報告されている⁴⁾。しかし本例は OKT 4 細胞が欠損しているにもかかわらず免疫グロブリン (IgG, IgM, IgA) は正常値を示し、さらには helper/inducer 能を持つ Leu 3a 細胞が認められた。このことは本例の helper/inducer T 細胞は Leu 3a 抗原陽性で OKT 4 抗原陰性であることを示唆している。事実ヒト helper/inducer 細胞における FITC ラベルの OKT 4 および抗 Leu 3a mAb を用いた competitive binding inhibition 試験ではお互いの mAb によって helper/inducer 細胞陽性率はまったく抑制されず、OKT 4 および抗 Leu 3a mAb は helper/inducer 細胞上の抗原の異なる epitope を認識していると報告されている¹⁶⁾。以上の結果より、本例は helper/inducer T 細胞の表面抗原である OKT 4 の epitope の欠損であることが示された。一方 OKT 4 または Leu 3a 細胞が有するリンパ球の mitogen (PHA-P, Con A) および antigen (PPD) に対するリンパ球増殖反応は、本例においてはコントロールと同程度に認められた。これらの結果はリンパ球の機能とリンパ球表面抗原とは必ずしも一致しないことを示し、リンパ球表面抗原の解析には慎重であらねばならないことを示している。さらにリンパ球の機能検査として NK 細胞と NK 活性を検討した。NK 細胞陽性率は年齢とともに上昇すること¹⁷⁾が報告されているが本例の NK 細胞陽性率は同年齢者のコントロールと比較してやや高値を示していた。この原因は不明であるが、NK 細胞に対する mAb が他のリンパ球 (suppressor/cytotoxicity T) と交叉反応を示す¹⁸⁾ことも NK 細胞陽性率が高値を示す一因と考えられる。なお NK 活性はコントロールと同程度の活性を示し、今回これら免疫学的パラメータの検討では免疫不全を疑わせる所見は認められなかった。

V 結 語

健常者 (36歳, 男性) において OKT 4 細胞欠損を認めた。しかし免疫グロブリンは正常値を示し、リンパ球増殖反応, NK 活性もコントロールと差を認めず、さらには TR も陽性であり、免疫不全を認められなかった。

文 献

- 1) Engleman, E.G., Warnke, R., Fox, R.I., Dille, J., Benike, C.J. and Levy, R. : Studies of a human T lymphocyte antigen recognized by a monoclonal antibody. Proc Natl Acad Sci USA, 78 : 1791-1795, 1981
- 2) Kamoun, M., Martin, P.J., Hanson, J.A., Brown, M.A., Siadak, A.W. and Nowinski, R. C. : Identification of human T lymphocyte surface protein associated with the E rosette receptor. J Exp Med, 153 : 207-211, 1981
- 3) Umoe, T., Daley, J.F., Bhan, A.K., Levey, R.H., Schlossman, S.F. and Reinherz, E.L. : Acquisition of immune competence by a subset of human cortical thymocytes expressing mature T cell antigens. J Immunol, 129 : 1054-1059, 1982
- 4) Engleman, E.G., Benike, C.J., Glickman, E. and Evans, R.L. : Antibodies to membrane structures that distinguish suppressor/cytotoxic and helper T lymphocyte reaction in man. J Exp Med, 153 : 193-198, 1981
- 5) Therburst, C., van Agthoven, A., Reinherz, E.L. and Schossman, S.F. : Biochemical analysis of human T lymphocyte differentiation antigens specific for the inducer subset (T4) and the cytotoxic/suppressor subset (T5). Science, 209 : 520-521, 1980
- 6) Reinherz, E.L., Kung, P.C., Goldstein, G. and Schlossman, S.F. : A separation of functional subsets of human T cells by a monoclonal antibody. Proc Natl Acad Sci USA, 76 : 4061-4065, 1979
- 7) Nadler, L.M., Stashenko, P., Hardy, R., van Agthoven, A. and Schlossman, S.F. : Characterization of a human B cell-specific antigen (B2) distinct from B1. J Immunol, 126 : 1941-1947, 1981
- 8) Lampson, L.A. and Levy, R. : Two populations of Ia-like molecules on a human B cell line. J Immunol, 125 : 293-299, 1980
- 9) Abo, T and Balch, C.M. : A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody. J Immunol, 127 : 1024-1029, 1981
- 10) Phillips, J.H. and Babcock, G.F. : NKP-15 : A monoclonal antibody reactive against purified human natural killer cells and granulocytes. Immunol letters, 6 : 143-149, 1983
- 11) Stephan, H.I., Rittershaus, C.W., Healey, K.W., Struzziero, C.C., Hoffman, R.A. and Hansen, P.W. : Rapid enumeration of T lymphocytes by a flow-cytometric immunofluorescence method. Clin Chem, 28 : 1905-1909, 1982
- 12) 大久保喜雄, 中田真佐雄, 北沢邦彦, 和田茂比古, 草間昌三 : 結核性胸膜炎, 肺結核におけるリンパ球表面抗原の解析とリンパ球増殖反応. 信州医誌, 34 : 155-159, 1986
- 13) Herberman, R.B. and Hoden, H.H. : Natural cell mediated immunity. Adv Cancer Res, 27 : 305-377, 1978
- 14) Bach, M., Phan-dinh-Tvy, F., Bach, J., Wallach, D., Biddison, W.E., Sharrow, S.O., Goldstein, G. and Kung, P.C. : Unusual phenotypes of human inducer T cells as measured by OKT 4 and related monoclonal antibodies. J Immunol, 127 : 980-982, 1981
- 15) Sato, M., Hayashi, Y., Yoshida, H., Yanagawa, T. and Yura, Y. : A family with hereditary lack of T4⁺ inducer/helper T cell subsets in peripheral blood lymphocytes. J Immunol, 132 : 1071-1073, 1984
- 16) Thomas, C.F., Jane, E.T., Anne, A.F., Fobert, B.C., Benedict, C. and Patrick, C.K. : Antigenic polymorphism of the T4 differentiation antigen expressed on human T helper/inducer lymphocytes. Hum Immunol, 9 : 89-102, 1984
- 17) Abo, T., Cooper, M.D. and Balch, C.M. : Postnatal expansion of the natural killer and killer cell population in humans identified by the monoclonal HNK-1 antibody. J Exp Med, 155 :

321-326, 1982

- 18) Lanier, L. L. and Loken, M. R. : Human lymphocyte subpopulations identified by using three color immunofluorescence and flow cytometry analysis : Correlation of Leu 2, Leu 3, Leu 7, Leu 8 and Leu 11 cell surface antigen expression. J Immunol, 132 : 151-156, 1982

(60. 12. 16 受稿)