

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

移植 (1985.04) 20巻2号:124~132.

Cytotoxic T lymphocyte (CTL)クローンを用いたHLA-DQ抗原機能の解析

熊井恵美, 池田久実, 片桐一

Cytotoxic T lymphocyte (CTL) クローンを用いた HLA-DQ 抗原機能の解析

熊井 恵美・池田 久實*・片桐 一*

The Functional Role of HLA-DQ Antigens at the Level of Human Cytotoxic T Lymphocyte Clones.

Megumi Kumai, Hisami Ikeda* and Makoto Katagiri*

Department of Otorhinolaryngology, Asahikawa Medical College

** Department of Pathology, Asahikawa Medical College.*

[Summary]

The functional role of human class II antigens were analyzed by using human CTL clones and monoclonal antibodies specific to human class II antigens. Among CTL clones generated from alloreactive T cells, were M-27 and K-154 clones, whose CTL activities were inhibited by anti-DR framework antibody 7B6 and anti-DQ antibody Sh-2. It was concluded that the DQ antigen played a crucial role in the CTL activities of these two clones.

First, there was a strong correlation between CTL activity of the M-27 clone and the expression of Sh-2 reactive antigen on the target cells.

Second, inhibitory activity of Sh-2 antibody on K-154 CTL clone was dependent on the expression of Sh-2 reactive antigen on the target cells.

Third, CTL activity of K-154 clone was inhibited by another anti-DQ antibody BV3 but not by anti-DR antibody DI4. The Sh-2 reactive epitope and DQw3 allodeterminant were not regarded as target epitopes for the K-154 clone, because the donor of K-154 clone expressed both the DQw3 and Sh-2 reactive antigens.

Key words: human class II antigens

HLA-DQ antigen

CML

CTL clone

monoclonal antibody

I. 緒言

HLA-D 領域の遺伝子群は、マウスの I-E 抗原に相

当する DR 抗原¹⁾, I-A 抗原に相当する DQ (DC) 抗原²⁻⁴⁾, さらに DP (SB) 抗原⁵⁾, などの複数の class II 抗原を支配している。これらの抗原は、免疫応答系のそれぞれの機能を分担し、免疫応答系を介して発症する疾患に重要な影響を及ぼしていると考えられる。class II 抗原のうち DR 抗原系の機能については解析が進めら

旭川医大 耳鼻咽喉科

* 同 第2病理

(59・11・16 受付)

れているが、DQ 抗原の機能についての詳細は明らかでない。われわれは、DQ 抗原系の機能を解析する目的で、T 細胞機能のひとつである CML (cell-mediated lympholysis) の実験系を用いて検討を行なった。CML は、ウイルス感染、移植片拒絶、腫瘍免疫等の研究分野で広く用いられており target 細胞の認識に class I, class II 抗原が重要な役割を果たしていることが知られている。HLA 抗原の中でも class I 抗原 (HLA-A, B, C)⁶⁻⁹⁾, class II 抗原のうちの HLA-DR¹⁰⁻¹⁴⁾ および DP 抗原¹⁵⁾が、target 抗原となり得ることが報告されているが、DQ 抗原に関する報告は極めて少ない。われわれはすでに、DQ 抗原系はリンパ球混合反応 (mixed lymphocyte reaction=MLR) には関与する可能性が少ないと報告した¹⁶⁾。今回は、DQ 抗原を主に検出する単クローン抗体を用いて、CTL (cytotoxic T lymphocyte) クローンのレベルで解析を試みた。その結果、DQ 抗原系が CML に関与していることが T 細胞クローンのレベルで確認され、DQ 抗原系が CTL の target 認識機構に重要な役割を担っている可能性が明らかとなったので報告する。

II. 実験材料および方法

1. T 細胞クローン

T 細胞クローンは、平田らの方法に準じ¹⁸⁾、ヒト培養 B 細胞を stimulator として増殖してくる 5~7 日目の alloreactive T 細胞を、20% (v/v) interleukin-2 (IL-2) および抗原呈示細胞 (antigen presenting cell=APC) 存在下で Terasaki microplate を用いた limiting dilution 法 (0.3 または 0.5 個/well) により作成した。

本実験に用いたヒト培養 B 細胞および donor の末梢リンパ球の HLA-phenotype は表 1 に示した (donor 末梢リンパ球の HLA-phenotype は北大医学部第 1 病理、国兼浩嗣等の成績に基づいている)。

responder のリンパ球は、donor の末梢血より、Ficoll-Conray (比重: 1.084) を用いた比重遠心法 (1800 rpm, 30 分) で分離し、MEPS にて 2 回洗浄 (2000 rpm, 5 分, 800 rpm 10 分) 後、10% AB 型血清加 RPMI 1640 に浮遊させて用いた。IL-2 として、ヒト末梢血単核細胞 2×10^6 /well を、200 倍に希釈した PHA-P (Difco 社製) を 20% (v/v) の割合に加えた 5% AB 型

表 1 各種培養 B 細胞および donor の HLA-phenotype

	HLA (Class I)		HLA (Class II)		Sh-2
	A	B	DR	DQ	
Donor					
M.K.	24/11	13/35	w9/-	w3/-	+
N.M.	2/w33	44/w46	w6Y/w8	w1/-	-
S.H.	2/11	35/(39)	w9/6 J	w1/w3	+
ヒト培養 B 細胞					
EBV-Sa	9/9	7/7	1/1	w1/w1	-
EB-CMG	3/3	7/7	2/2	w1/w1	-
MAT			3/3	w2/w2	-
ER	2/2	44/44	4/4	w3/w3	+
L-KT-9	11/24	40/40	4/4	w3/w3	+
EBV-Wa	9/9	w54/w54	4/4		-
IDF	26/28	18/38	5/5	w3/w3	+
JMe	2/2	39/39	5/5	w3/w3	+
SWEIG			5/5	w3/w3	+
L-KT-11	w19/w19	44/44	w6Y/w6Y		-
HOR	w19/w19	12/12	w6/w6	w1/w1	-
EBV-Sh	2/2	15/15	w6.2/w6.2	w3/w3	+
LG-10	29/29	12/12	7/7	w2/w2	-
L-PITOTT	29/29	44/44	7/7	w2/w2	-
EBV-Ky	26/11	w61/w48	w9/w9	w3/w3	+
L-KT-12	29/w19	5/5	w9/w9	w3/w3	+
ISK	2/24	15/w61	w9/w9	w3/w3	+

血清加 RPMI 1640 にて培養し、48 時間後の培養上清を Amicon membrane PM-10 (Amicon 社製) で 4 倍に濃縮したものをを用いた。また、末梢血より分離した単核細胞に、mitomycin-C (MMC) 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を加えて 37°C、30 分間処理後、MEPS にて 2 回洗浄 (1500 rpm 5 分) し、 $1 \times 10^6/\text{ml}$ に調整したものを APC として用いた。

上記の方法により得たクローンは IL-2 および APC 存在下で維持されている。

2. 単クローン抗体

ヒト class II 抗原に対する単クローン抗体は、Köhler, Milstein らの方法¹⁷⁾ に準じて、ヒト培養 B 細胞で免疫されたマウス脾細胞を用いて得られた。7B6 抗体は class II 抗原の monomorphic determinant を検出し、DI4 抗体は DR 抗原の monomorphic determinant を検出し、BV3 抗体および Sh-2 抗体は DQ 抗

原の polymorphic determinant を検出する。7B6 抗体、DI4 抗体、BV3 抗体および Sh-2 抗体の検出する抗原分子間の異同については、sequential coprecipitation 法により確かめられている。Sh-2 および抗 HLA-A2 抗体は、フジサワ薬品工業中央研究所、山下達雄博士より分与された。ISCR-3 抗体¹⁸⁾ (米国、NIH、NCI、篠原信賢博士より分与された。) は、抗 I-E^k 抗体でありヒト DR 抗原と交叉反応性を示す抗体である。

3. radioimmunoassay

各種ヒト培養 B 細胞において、Sh-2 抗体で検出される抗原決定基の発現は Katagiri らの方法¹⁹⁾ に準じ ¹²⁵I-標識可溶性 class II 抗原材料である ¹²⁵I-pap-Sh を用いた radioimmunoassay の抑制試験²⁰⁾ により検討した。

4. リンパ球混合反応 (mixed lymphocyte reaction)

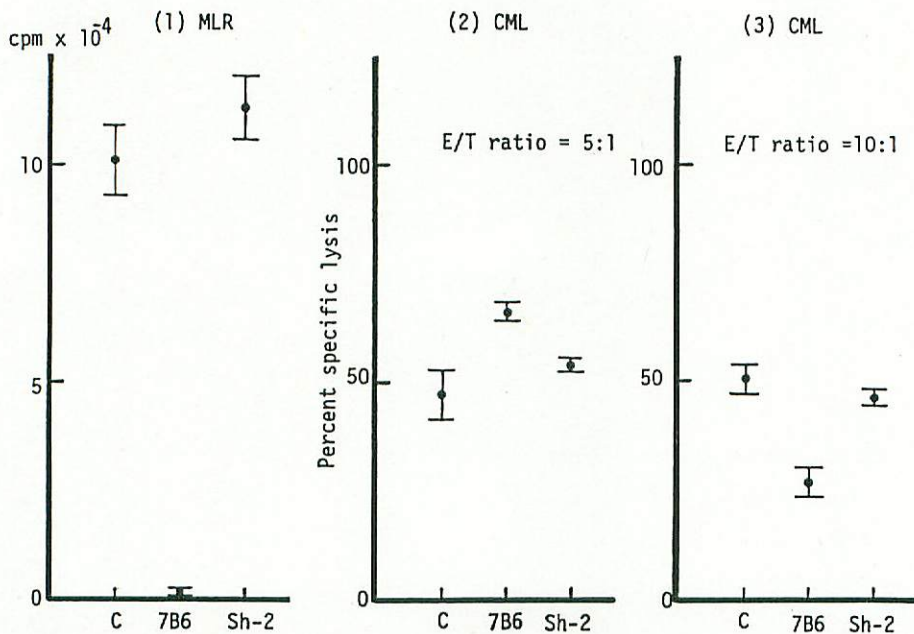


図 1 MLR および CML に対する抗 class II 抗体の抑制効果

(1) MLR は、stimulator 細胞 EBV-Ky ($2 \times 10^4/\text{well}$) と responder 細胞 donor M.K. の末梢血単核細胞 ($1 \times 10^5/\text{well}$) との allogeneic MLR を検討したものである。

(2) CML は、target 細胞 EBV-Ky と donor M.K. の末梢血単核細胞を、EBV-Ky で 2 回刺激後の alloreactive T 細胞を effector とした時の CML を検討したものである。

(3) CML は、target 細胞 EBV-Ky と donor M.K. の末梢血単核細胞を EBV-Ky、L-KT-12 にて各々 2 回刺激後の alloreactive T 細胞を effector 細胞とした時の CML を検討したものである。

C は単クローン抗体が入らない反応系であり、7B6、Sh-2 は各々の単クローン抗体 (20~25% (v/v)) が入っている反応系である。

=MLR)

96穴丸底プレートを用いて MMC 処理ヒト培養B細胞を stimulator(2×10^4 /well) とし, 正常人末梢血単核細胞を responder(1×10^5 /well) とした allogeneic MLR を triplicate で行ない, 反応開始と同時に単クローン抗体 (10倍希釈液 25%(v/v)) を加え, 5% CO₂ 存在下で 37°C 5日間培養し, [³H]-thymidine 0.5μCi/well を加え 18時間後に harvest し DNA 合成能を測定した。

5. CTL (cytotoxic T lymphocyte) 活性

96穴丸底プレートを用いて ⁵¹Cr-release assay 法により CTL 活性を測定した。 ⁵¹Cr を 3時間作用させて標識したヒト培養B細胞 ($1 \sim 3 \times 10^5$ /50μl/well) を target 細胞とした。 effector 細胞 ($1 \sim 3 \times 10^4$ /100μl/well) は 10% AB 型血清加 RPMI 1640 に浮遊させ用いた。 target 細胞と effector 細胞を混合後, cold medium に

て全量 200μl/well として 5% CO₂ 存在下で 37°C 4時間反応させた。 反応終了後, 遠心 (800 rpm 5分) し, 上清 100μl 中の放射活性を測定した。 これらの反応は, triplicate で行なった。 CTL 活性は,

% specific lysis

$$\left(\frac{\text{Experimental Release} - \text{Minimal Release}}{\text{Maximal Release} - \text{Minimal Release}} \times 100 \right)$$

により判定した。 各抗体による抑制効果は, CTL assay 反応開始と同時に単クローン抗体 (10倍希釈液, 25%(v/v)) を加え, 4時間後の上清 100μl 中の放射活性を測定した。 minimal release として, 標識 target 細胞のみを 10% AB 型血清加 RPMI 1640 にて 4時間培養後, 上清 100μl 中の放射活性を測定した。 maximal release として, 標識 target 細胞を 1% Triton X-100 にて破壊し 4時間培養後の上清 100μl 中の放射活性を測定した。

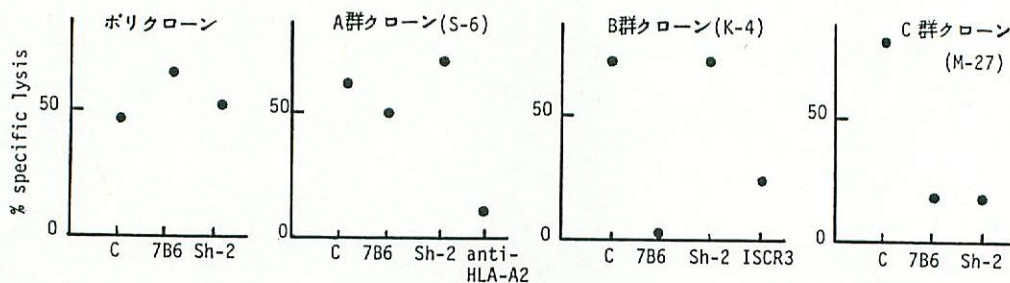


図 2 単クローン抗体による CTL 活性の抑制パターン

A群クローンは S-6 を, B群クローンは K-4 を, そしてC群クローンは M-27 を例にして抑制パターンを示した。 K-4 の target 細胞は EBV-Ky で E/T ratio は各々 5 対 1, 4 対 1 である。 S-6, M-27 の target 細胞は EBV-Sh で, E/T ratio は各々 10 対 1, 5 対 1 である。

C は単クローン抗体が入らない反応系であり, 7B6, Sh-2, anti-HLA-A2, ISCR-3 は各々の単クローン抗体 (25% (v/v)) が入っている反応系である。

表 2 CTL クロンの発現頻度

Donor	Stimulator 細胞	Target 細胞	CTL クロンの Inhibition pattern			
			A	B	C	D
			7B6(-) Sh-2(-)	7B6(+) Sh-2(-)	7B6(+) Sh-2(+)	7B6(-) Sh-2(+)
M.K. の PBL	Ky-Ky	EBV-Ky	12	9	0	0
	Ky-L-KT 12	EBV-Ky	4	12	0	0
	-Ky-L-KT 12					
	Sh-ER-Sh	EBV-Sh	0	0	1	0
Sh-Sh	EBV-Sh	0	1	1	0	
N.M. の PBL	Sh-ER-Ky	EBV-Sh	5	2	3	0
	-ISK-Sh	EBV-Sh	14	6	2	0
Sh-Ky						
Total			35	30	7	0

III. 結 果

1. CTL ポリクローンの解析

donor M.K. の末梢リンパ球 (DRw9⁻, DQw3⁻) と DRw9 抗原を共有しているヒト培養 B 細胞 EBV-Ky (DRw9/DRw9, DQw3/DQw3) との allogeneic MLR は, 平田らの報告¹⁶⁾と同様, ヒト class II 抗原の framework を検出する 7B6 抗体により強く抑制されたが, DQ 抗原に対する Sh-2 抗体では抑制されなかった (図 1(1)). 7B6 抗体により抑制効果が認められたことから, DQ 抗原以外の class II 抗原上のエピトープによって MLR が惹起されたと考えられる. ただし, responder 細胞と stimulator 細胞が共有する DRw9 はこの MLR に関与していないと考えられる. しかしながら EBV-Ky で 2 回刺激して得られた donor M.K. の effector 細胞の EBV-Ky に対する CTL 活性は 7B6 抗体, Sh-2 抗体の両抗体によって抑制されなかった (図 1(2)). 次に, class I 抗原の異なる 2 種類の DRw9 ホモ接合体細胞 EBV-Ky, および L-KT-12 により各々 2 回刺激して得られた donor M.K. の effector 細胞の EBV-Ky に対する CTL 活性を検討した. その結果, 7B6 抗体により CTL 活性が部分的に抑制された. しかし, Sh-2 抗体により抑制されなかった (図

1(3)). 刺激細胞をかえることにより, class II 抗原に対する CTL が選択的に増加した可能性が考えられた.

2. CTL クローンの解析

allogeneic MLR で増殖してくる alloreactive T 細胞を limiting dilution 法によりクローン化した CTL クローンは, 7B6 抗体, Sh-2 抗体による CTL 活性の抑制効果から, 次の 4 群に大別される (図 2, 表 2).

A 群: 7B6 抗体および Sh-2 抗体により CTL 活性が抑制されないクローン群であり class I 抗原系が CTL 活性に関与している可能性が考えられた. A 群のクローンの中には donor 細胞と target 細胞が共有する HLA-A2 抗原に対する単クローン抗体でその CTL 活性が抑制されるクローンが存在した (図 2(A 群)).

B 群: 7B6 抗体により CTL 活性が強く抑制されるが Sh-2 抗体では抑制されないクローン群であり, DQ 抗原系以外の class II 抗原が CTL 活性に関与している可能性が考えられた. これらの CTL クローンの中には, DR 抗原を検出する単クローン抗体 ISCR-3 により CTL 活性が抑制されるクローンが存在した (図 2(B 群)).

C 群: 7B6 抗体および Sh-2 抗体により CTL 活性が抑制されるクローン群であり, Sh-2 抗体が検出する

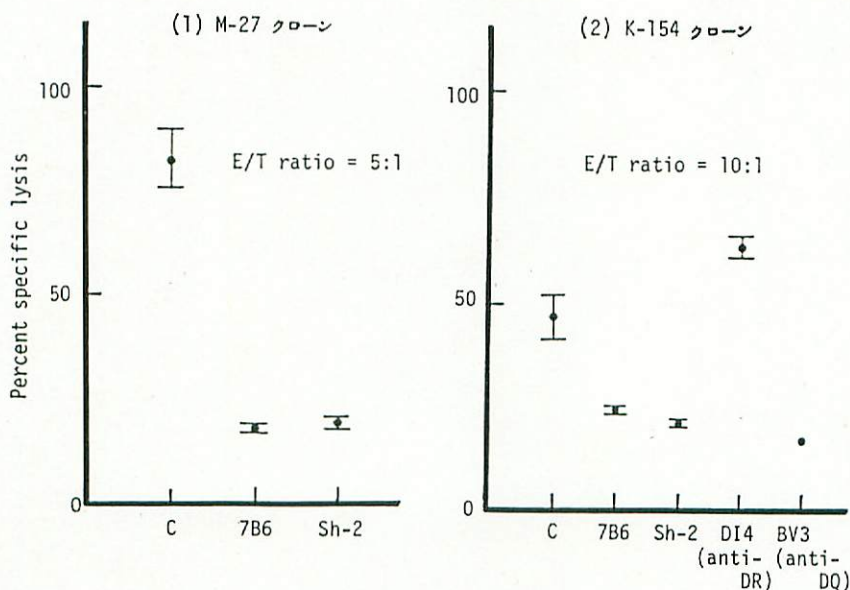


図 3 C 群に属する CTL クローン M-27, K-154 の単クローン抗体による抑制効果 M-27, K-154 クローンを effector 細胞として target 細胞 EBV-Sh に対する CTL 活性を検討したものである.

C は単クローン抗体が入っていない反応系であり, 7B6, Sh-2, DI4, BV3 は各々の単クローン抗体 (25%(v/v)) が入っている反応系である.

DQ 抗原 (または抗原決定基) が CTL 活性に関与している可能性が考えられた. stimulator 細胞をかえることによりこれらのクローンの出現頻度が増加する傾向は認められなかった (表 2, 図 2 (C 群)).

D 群: 7B6 抗体により CTL 活性は抑制されないが, Sh-2 抗体により抑制されるクローン群で, 現在まで作成されていない (表 2).

3. C 群 CTL クローンの解析

C 群に属するクローンの中で検討し得たのは, M-27 および K-154 クローンである. M-27 クローンは, donor N.M. (DRw6 Y/w8, DQw1/-) の末梢リンパ球を DQw3 抗原を共有するホモ接合体培養 B 細胞 EBV-Sh→ER→EBV-Ky→ISK→EBV-Sh で刺激して得られたクローンである (図 3 (1)). 7B6 および Sh-2 両抗体により EBV-Sh (DRw6.2/w6.2, DQw3/w3) に対する CTL 活性が強く抑制され, DQ 抗原が M-27 クローンの CTL 活性に関与している可能性が考えら

れた. M-27 クローンを用いて, 各種培養 B 細胞に対する CTL 活性を検討したところ target 細胞の Sh-2 抗原の発現と M-27 クローンの CTL 活性は一致しており (表 3 (1)), この M-27 クローンは Sh-2 抗体で検出される抗原を target 抗原として細胞障害が起こっていると考えられた.

K-154 クローンは, donor M.K. (DRw9/-, DQw3/-) の末梢リンパ球を EBV-Sh で 2 回以上刺激して得られた. このクローンは EBV-Sh に対する CTL 活性は 7B6 および Sh-2 抗体により抑制された (図 3 (2)). また, 抗 DR 抗体である DI4 抗体により抑制されないが, DQ 抗原に特異的な BV3 抗体により抑制された (図 3 (2)). 次に K-154 クローンを用いて各種培養 B 細胞に対する CTL 活性の特異性を検討したところ, target 細胞の Sh-2 抗原の発現と K-154 クローンの CTL 活性はほぼ一致した. しかし, L-KT-12, ISK, および L-PITOTT に関しては一致をみなかった (表 3 (2)). これらのことおよび K-154 クローンの

表 3 C 群に属する CTL クローンの種類培養 B 細胞に対する特異性

(1) Target 細胞	HLA			Sh-2	Percent specific lysis of M-27
	A	B	DR		
EBV-Sh	2/2	15/15	w6.2/w6.2	+	49.8 ± 1.6
ER	2/2	44/44	4/4	+	89.6 ± 16.7
EBV-Ky	26/11	w61/w48	w9/w9	+	40.9 ± 3.5
L-KT-11	w19/w19	44/44	w6Y/w6Y	-	4.0 ± 3.7
EBV-Wa	9/9	w54/w54	4/4	-	0.4 ± 0.5

(2) Target 細胞	HLA			Sh-2	Percent specific lysis of K-154
	A	B	DR		
EBV-Sa	9/9	7/7	1/1	-	0.9 ± 2.2
EB-CMG	3/3	7/7	2/2	-	3.4 ± 4.9
MAT			3/3	-	5.9 ± 0.5
ER	2/2	44/44	4/4	+	13.1 ± 4.6
L-KT-9	11/24	40/40	4/4	-	4.9 ± 3.1
IDF	26/28	18/38	5/5	+	15.4 ± 4.2
JMe	2/2	39/39	5/5	+	12.9 ± 5.7
SWEIG			5/5	+	24.8 ± 3.9
L-KT-11	w19/w19	44/44	w6Y/w6Y	-	7.05 ± 0.15
HOR	w19/w19	12/12	w6/w6	-	4.1 ± 1.3
EBV-Sh	2/2	15/15	w6.2/w6.2	+	20.4 ± 2.5
LG-10	29/29	12/12	7/7	-	7.0 ± 6.2
L-PITOTT	29/29	44/44	7/7	-	21.9 ± 3.1
L-KT-12	29/w19	5/5	w9/w9	+	5.7 ± 1.4
ISK	2/24	15/w61	w9/w9	+	0.7 ±

(E/T ratio=10:1)

donor が DQw 3 抗原特異性を有していることから、DQw 3 抗原特異性とは異なる DQ 抗原分子上のエピトープを認識して細胞障害が起こっている可能性が考えられた。

IV. 考 察

現在まで、DQ 抗原系の機能についての詳細は明らかではない。平田らは allogeneic および autologous MLR のクローンレベルの解析で、class II 抗原に monomorphic な 7B6 抗体は MLR を強く抑制し、DQ 抗原に特異的な Sh-2 抗体は抑制しない事実から、Sh-2 抗体により検出される DQ 抗原が MLR に関与する可能性が非常に少ないことを示した¹⁶⁾。

CML に関与する HLA 抗原として class I 抗原⁹⁻¹³⁾のほか、DR 抗原¹⁰⁻¹⁴⁾、DP 抗原¹⁵⁾の class II 抗原が報告されている。本実験でも抗 class II 抗体で CTL 活性が抑制されず class I 抗原が関与していると推定される CTL クローン (A群)、および抗 class II framework 抗体 7B6 のみで CTL 活性が抑制され、Sh-2 抗体では抑制されず DQ 抗原以外の class II 抗原が関与していると推定される CTL クローン (B群) が高い頻度で観察された。今回はこれらのクローン群の詳細な検討を行っていない。しかし、A群に属するクローンの一部は、effector 細胞および target 細胞に共通する HLA-A 2 に対する単クローン抗体で CTL 活性が抑制されることが観察された。class I 抗原が CML の拘束分子として関与している可能性、または、HLA-A 2 自体の heterogeneity による可能性が考えられた^{21, 22)}。また、B群クローン中には、抗 DR 抗体で CTL 活性が抑制されるもの (K-4 クローン) の存在を確認している。ただし K-4 クローンの donor と target 細胞の共有する DRw 9 エピトープは K-4 クローンの target 抗原とはなり得ないと考える。DP 抗原の関与についての検討は行っていない。

DQ 抗原に関する研究の中で、Spits らは、DRw 6 に特異性を持つ CTL クローンの CTL 活性が、抗 DC-1 (抗 DQw 1) 抗体により抑制されることを報告しており^{23, 24)}、DQw 1 抗原が target 抗原となり得ることを示している。本実験で示されたように、M-27 クローンは DQw 3 抗原を検出する Sh-2 抗体により CTL 活性が抑制され、各種培養 B 細胞を target とした CTL 活性の結果と Sh-2 抗体の検出するエピトープの発現とが一致したことから、DQw 3 抗原が M-27 クローンの target 抗原である可能性が考えられた。また、K-154 クローンは、DQ 抗原に特異的な Sh-2 抗体、BV 3 抗体お

よび抗 class II framework 抗体である 7B6 抗体で CTL 活性が抑制され、抗 DR 抗体である DI 4 抗体では抑制されなかった。K-154 は DQw 3 陽性者である donor M.K. の末梢リンパ球を、EBV-Sh (DQw 3/DQw 3) により刺激して得られた CTL クローンである。したがって DQw 3 エピトープ自体が CTL の target 抗原となっている可能性は考えられない。しかしながら、CTL 活性が DQ 抗原に特異的な Sh-2 抗体および BV 3 抗体により抑制されることより、DQ 抗原分子上の DQw 3 とは異なるエピトープが target 抗原となっている可能性が考えられる。表 3 (2) の結果より、K-154 クローンの CTL 活性の特異性は、target 細胞の Sh-2 抗原発現とはほぼ一致しているが、Sh-2 抗原陰性の L-PITOTT に対しても CTL 活性が認められた。そして、K-154 クローンの L-PITOTT に対する CTL 活性は Sh-2 抗体によって抑制されなかった。したがってこの場合の細胞障害性には DQ 抗原が関与していないと考えられる。Ben-Nun らは、マウスを用いて、同一の CTL クローンが異なる 2 種類のエピトープに反応するという結果を報告しており²⁵⁻²⁷⁾、このことから、K-154 クローンと L-PITOTT との反応系には、DQ 抗原以外の抗原が関与している可能性が考えられる。また、Sh-2 抗原陽性細胞である L-KT-12 および ISK に対して CTL 活性が認められなかったことから、Sh-2 抗原エピトープ自体が CTL の target 抗原ではない可能性も考えられる。

V. 結 語

ヒト培養 B 細胞を target 細胞として、ヒト末梢リンパ球より得られる CTL クローンは、抗 class II 単クローン抗体による抑制パターンにより 4 群に大別され得る。

A群は、抗 class II framework 抗体 7B6 および抗 DQ 抗体 Sh-2 で CTL 活性が抑制されない群であり、抗 class I 抗体で抑制されるクローンを含んでいた。

B群は、7B6 抗体で CTL 活性が抑制され Sh-2 抗体では抑制されない群であり、抗 DR 抗体で抑制されるクローンを含んでいた。A群、B群に属する CTL クローンは高頻度に得られた。

C群は、7B6 および Sh-2 両抗体で抑制される群である。この群に属する 2 つの CTL クローン (M-27, K-154) の解析より、この群の CTL 活性には DQ 抗原が関与していることが明らかとなった。すなわち、① target 細胞の DQ 抗原発現と CTL 活性が相関する (M-27 クローン)。② Sh-2 抗体による CTL 活性抑

制が, target 細胞の抗原発現と相関する (K-154 クローン). ⑥ 抗 DR 抗体 DI4 では CTL 活性が抑制されないが, 別の抗 DQ 抗体 BV3 で抑制されるクローン (K-154) が存在した.

以上, DQ 抗原が CML に関与していることを T 細胞クローンのレベルで明らかにした.

文 献

- 1) Schackelford, D.A., Kaufman, A.J., and Strominger, J.L.: HLA-DR antigens; Structure, separation of subpopulations, gene cloning and function, *Immunological Review*, 66: 133, 1982.
- 2) Tanigaki, N. and Tosi, R.: The genetic control of human Ia alloantigens; A three loci model derived from the immunochemical analysis of "Supertypic" specificities. *Immunological Review*, 66: 5, 1982.
- 3) Tosi, R., Tanigaki, N., Centis, D., Ferrara, G.B., and Pressman, D.: Immunological dissection of human Ia molecules. *J. Exp. Med.*, 148: 1592, 1978.
- 4) Katagiri, M.: New B-cell alloantigen loci in the HLA-D region. *Jap. J. Med.*, 19: 63, 1980.
- 5) Shaw, S., DeMars, R., Schlossman, S.F., Smith, P.L., Lampson, L.A., and Nadler, L.M.: Serologic identification of the human secondary B cell antigens; Correlation between function, genetics, and structure. *J. Exp. Med.*, 156: 731, 1982.
- 6) Andreotti, P.E., Apgar, J.R. and Cresswell, P.: HLA-A2 as a target for cell-mediated lympholysis; Evidence from immunoselected HLA-A2 negative mutant cell line. *Human Immunology*, 1: 77, 1980.
- 7) Spits, H., De Vries, J.E. and Terhorst, C.: A permanent human cytotoxic T-cell line with high killing capacity against a lymphoblastoid B-cell line shows preference for HLA A, B target antigens and lacks spontaneous cytotoxic activity. *Cellular Immunology*, 59: 435, 1981.
- 8) Grunnet, N., Kristensen, T. and Kissmeyer-Nielsen, F.: Cell mediated lympholysis in man. The impact of HLA-C antigens. *Tissue Antigens*, 7: 301, 1976.
- 9) Spits, H., Breuning, M., Ivanyi, P., Russo, C., and De Vries, J.E.: *In vitro*-isolated human cytotoxic T-lymphocyte clones detect variations in serologically defined HLA antigens. *Immunogenetics*, 16: 503, 1982.
- 10) Feighery, C.F. and Stastny, P.: HLA-D region-associated determinants serve as targets for human cell-mediated lysis. *J. Exp. Med.*, 149: 485, 1979.
- 11) Feighery, C.F. and Stastny, P.: Cell-mediated cytotoxicity against HLA-D-region products expressed in monocytes and B lymphocytes: I. Blocking by unlabelled cells and inhibition by antisera. *Immunogenetics*, 10: 31, 1980.
- 12) Feighery, C.F. and Stastny, P.: Cell-mediated cytotoxicity against HLA-D-region products expressed in monocytes and B lymphocytes: II. HLA-A- or B-antigen compatibility is not required for HLA-D-region directed cytotoxicity. *Immunogenetics*, 10: 39, 1980.
- 13) Spits, H., Ijssel, H., Thompson, A., and De Vries, J.E.: Human T4⁺ and T8⁺ cytotoxic T lymphocyte clones directed at products of different class II major histocompatibility complex loci. *J. Immunol.*, 131: 678, 1983.
- 14) Shaw, S., Johnson, A.H., and Shearer, G.M.: Evidence for a new segregant series of B cell antigens that are encoded in the HLA-D region and that stimulate secondary allogeneic proliferative and cytotoxic responses. *J. Exp. Med.*, 152: 565, 1980.
- 15) Biddison, W.E., Rao, P.E., Talle, M.A., Goldstein, G., and Shaw, S.: Possible involvement of the OKT4 molecule in T cell recognition of class II HLA antigens; Evidence from studies of cytotoxic T lymphocytes specific for SB antigens. *J. Exp. Med.*, 156: 1065, 1982.
- 16) 平田 哲・片桐 一・池田久實: MLC 反応に関与するヒト class II 抗原の役割に関する研究. *移植*, 19: 68, 1983.
- 17) Köhler, G. and Milstein, C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 256: 495, 1975.
- 18) Watanabe, M., Suzuki, T., Taniguchi, M., and Shinohara, N.: Monoclonal anti-Ia murine alloantibodies crossreactive with Ia-homologues of other mammalian species including humans.

- Transplantation, 38: 712, 1983.
- 19) Katagiri, M., Natori, T., Tanigaki, N., Kreiter, V.P., and Pressman, D.: Papain-solubilized Ag-B antigens; I. Isolation and characterization of two components composing Ag-B antigens. *Transplantation*, 19: 230, 1975.
- 20) 片桐 一・池田久實・比嘉敏夫・丹野正隆・東 寛・三代川齊之・楯 玄秀・平田 哲・古井秀典・林朋子・佐藤英俊: 単クローン抗体による HLA-DR 及び DR 様抗原分子の解析. *日本免疫学会総会記録*, 11: 195, 1981.
- 21) Hill Gaston, J.S., Wallace, L.E., Rickinson, A.B., Epstein, M.A., and Pious, D.: Mutant HLA-A2 antigens as restricting elements for virus-specific cytotoxic T cells. *Immunogenetics*, 19: 475, 1984.
- 22) Wallace, L.E., Moss, D.J., Rickinson, A.B., McMichael, A.J., and Epstein, M.A.: Cytotoxic T cell recognition of Epstein-Barr virus-infected B cells.: II. Blocking studies with monoclonal antibodies to HLA determinants. *Eur. J. Immunol.*, 11: 694, 1981.
- 23) Krensky, A.M., Clayberger, C., Greenstein, J.L., Crimmins, M. and Burakoff, S.J.: A DC-specific cytolytic T lymphocyte line is OKT 8⁺. *J. Immunol.*, 131: 2777, 1983.
- 24) Spits, H., Borst, J., Giphart, M., Coligan, J., Terhorst, C. and De Vries, J.E.: HLA-DC antigens can serve as recognition elements for human cytotoxic T lymphocytes. *Eur. J. Immunol.*, 14: 299, 1984.
- 25) Ben-Nun, A., Lando, Z., Dorf, M.E. and Burakoff, S.J.: Analysis of crossreactive antigen-specific T cell clones.: Specific recognition of two major histocompatibility complex (MHC) and two non-MHC antigens by a single clone. *J. Exp. Med.*, 157: 2147, 1983.
- 26) Hünig, T. and Bevan, M.J.: Specificity of T-cell clones illustrates altered self hypothesis. *Nature*, 294: 460, 1983.
- 27) Clark, R.B., Chiba, J., Zweig, S.E. and Shevach, M.: T-cell colonies recognize antigen in association with specific epitopes on Ia molecules. *Nature*, 295: 412, 1982.
-