

-104- 骨髄リンパ球に関する研究 第2報

ラジオオートグラフィーによる表面免疫グロブリンの検出・直接法と間接法の比較

金沢医大 血液免疫内科

○吉田 弥太郎, 紺田 進

京大 代謝研

栗林 景容

目的および方法：骨髄リンパ球の Subpopulation を決定するため、B細胞マーカーとしての表面免疫グロブリンを直接法および間接法ラジオオートグラフィーにより検討した。生後約10週齢 C57BL マウスを脱血せしめ、骨髄および脾・腸間膜リンパ節・胸腺と末梢血白血球などの細胞浮遊液を作製し、直接法では ^{125}I 標識 Polyvalent 家兎抗マウス免疫グロブリンと 0°C 30分間ふ置、間接法では Polyvalent 家兎抗マウス免疫グロブリンと 0°C 30分間ふ置後よく洗滌し、次いで ^{125}I 標識羊抗家兎免疫グロブリン 0°C 30分間ふ置する。ふ置後よく洗滌し塗抹・固定後に FUJ-1 2E emulsion で dipping し、ラジオオートグラフィーを作製した。抗血清は Chloramin T 法で標識し、比放射能は $3\sim 10\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ Protein である。羊抗家兎免疫グロブリンは家兎免疫グロブリンに対する抗体分画を Immunoabsorbent column で分離精製したものを用いた。

成績および結論：(1)脾細胞を用いた対照実験では間接法では家兎抗血清と予めふ置した場合のみ標識細胞が出現し、直接法ではかゝる前処置を行うと標識細胞はなく無処置の場合のみ標識細胞が出現した。(2) Polyvalent 家兎抗マウス免疫グロブリンの段階的稀釈を行い陽性率を検討すると、間接法では $1/500$ 以上の濃度で陽性率は Plateau となり、骨髄リンパ球約 30%、脾約 50%、腸間膜リンパ球 28%、胸腺 0% である。直接法でも高濃度の ^{125}I 標識家兎抗マウス免疫グロブリンでは骨髄・脾の陽性率は間接法に匹敵するが、低濃度では陽性率が低下し濃度依存性が強い。このことより間接法の方がより鋭敏と考えられる。(3) 間接法は所要時間が長く、Background 銀粒子がやゝ多く、non-lymphoid cell の標識も直接法よりはやゝ強いが、標識リンパ球の銀粒子の分布上いわゆる Capping 像を呈するものが多いので、 ^3H -thymidine との二重標識に有利である。(4) 間接法では単一抗血清の標識により、多種類の家兎抗血清とリンパ球との結合を検出しうる。(5) 以上の成績より、直接法・間接法ともマウス B細胞の表面免疫グロブリンを検出しうるが、マウス骨髄リンパ球は脾細胞に比して一般に表面免疫グロブリン量の少ないものが多いので(38回日血総会発表)、鋭敏度の高い間接法の方が表面免疫グロブリンの定量的検索に適していると考えられる。

-105- $^{99\text{mTc}}$ 標識赤血球の血液定量的検索における評価

東二 内

○与那原良夫 川戸正文 伊藤宗元

東二 外

石山和夫

横浜 病

倉光一郎

$^{99\text{mTc}}$ 標識赤血球は dynamic 或は static imaging agent として用いられているが、血液定量的検索での有用性を評価するため若干の検討を試みた。

操作は通常 $^{99\text{mTcO}_4^-}$ で flash labeling を行う labeling step と 0.22μ の millipore filter で濾過した SnCl_2 を加へる reducing step の2段階に分けて行われる。したがってこの両者について検索した。

in vitro の血漿存在下での標識率は 55% と低くこれに対して packed RBC 標識率は高値を示した。更に $^{99\text{mTcO}_4^-}$ の labeling step のみで reducing step を省いた場合の標識率は著しく低く、また赤血球を $^{99\text{mTcO}_4^-}$ で SnCl_2 、アスコルビン酸、 FeSO_4 などを加えた溶液で incubate した場合には 10% 以下の低率に止まつた。以上から標識には2段階操作が必須でありまた SnCl_2 には赤血球へ転入した $^{99\text{mTc}}$ を固定化する作用も有していることが明らかである。 0.22μ Millipore filter で濾過した SnCl_2 を非濾過のそれと比較すると濾過した SnCl_2 を用いた際に高率となり、その差は平均 8% に及んだ。これは操作過程に生じた Sn(OH)_2 によるものと考えられることから、濾過の必要性を強調したい。in vivo で静注2時間目までの経過は ^{51}Cr -RBC の場合と略同様で、それ以後は循環血中より早く消失した。 $^{99\text{mTc}}$ および ^{51}Cr 標識 RBC の循環血液量比 ($^{99\text{mTc}}\text{CrBV}/^{51}\text{CrBV}$ ratio) は 15, 30, 60, 180 分で夫々 1.04, 1.02, 1.06, 1.13 であり $^{99\text{mTc}}$ (3時間) / $^{99\text{mTc}}\text{CrBV}$ (15分) は 1.22, $^{51}\text{CrBV}$ (3時間) / $^{51}\text{CrBV}$ (15分) は 1.08 であつた。なお、この検索期間を通じて、各梗体内赤血球放射能は高率を維持していることから、赤血球から遊離した $^{99\text{mTc}}$ は速かに腎を介して排泄されることを示した。以上の如くなお検討の余地はあるが、機械的障害を可及的に少くし、濾過 SnCl_2 を用いることにより、被曝量軽減の上からも、短時間内血液定量的検索に有用なものとする。