

Null-cell 白血病細胞株(NALL-1) の抗原性に関する研究

第 2 編

家兎抗 NALL-1 血清による白血病関連抗原の検討

岡山大学医学部第2内科学教室(主任:木村郁郎教授)

宇 野 順 三 郎

(昭和58年3月18日受稿)

Key words: Null-cell 白血病細胞株(NALL-1)

白血病関連抗原,
家兎抗 ALL 血清

緒 言

白血病細胞の膜抗原性を解析することは、白血病細胞の起源を知るため、また臨床的にもその分類ならびに治療上重要である。著者は、第1編において null (non-T/non-B) 細胞型急性リンパ球性白血病 (null-ALL) 由来の白血病細胞株 NALL-1¹⁾ の抗原性を one way mixed lymphocyte culture (MLC) により検討し、NALL-1 細胞は B 細胞株同様強い MLC 刺激性を有し、null-ALL 細胞が HLA-DR (Ia-like 抗原) を保有することを証明し報告した²⁾。

今回、NALL-1 株細胞の膜抗原性をさらに研究するため、ならびに白血病関連抗原の有無を調べる目的で、家兎抗 NALL-1 血清を作製し種々の血液腫瘍細胞との反応性を検討し、既知のマーカーを持たない null-cell 系腫瘍の指標を得ようと試みた。

材料ならびに方法

1) 培養株細胞

用いた細胞株は、null-ALL 細胞株; NALL-1¹⁾, KOPN-1 (慶応大学, 中沢より分与), KOPN-8 (慶応大学, 中沢より分与), AL-6 (九州大学, 岡野より分与), T-ALL 細胞株; TALL-1³⁾, B-ALL 細胞株; BALL-1⁴⁾, および前骨髄性白血病

(APL) 細胞株 HL-60⁵⁾ である。

2) 白血病細胞およびリンパ腫細胞

患者末梢静脈血、骨髄および腹水中の細胞をヘパリン加にて採取、Ficoll-conray 法⁶⁾により有核細胞を分離し用いた。また、リンパ腫患者リンパ節は、はさみで細切し細胞浮遊液を得た。慢性骨髄性白血病の慢性期のもの以外は、腫瘍細胞が形態学的に50%以上を示めていたものについて検討した。

3) 正常人末梢リンパ球および PHA 刺激リンパ芽球

正常人静脈血をヘパリン加にて採取後、Ficoll-conray 法にて有核細胞を分離した。PHA 刺激リンパ芽球は、20%牛胎児血清加 RPMI 1640 にて PHA-M (Difco, Laboratories Cleveland) を100倍希釈した培養液に、正常人リンパ球 5×10^5 /ml を加え、CO₂ ふ卵器37°Cにて3日間培養し得た。

4) 家兎抗 NALL-1 血清の作製および吸収

NALL-1 細胞 4×10^7 個を生理食塩水にて洗浄後、第1日目と第14日目に家兎に静注、21日目に採血、血清を分離し、56°C30分補体を不活性化後、-20°Cに冷凍保存した。

抗血清の吸収は、10倍希釈の抗血清5mlを5人の正常人赤血球5mlで4°C60分2回吸収し、続いて正常人肝細胞5mlで、4°C60分2回吸収、

さらに BALL-1 細胞 1 ml で 4°C120分吸収, 最後に TALL-1 細胞 0.5ml で 4°C120分吸収した。吸収後 30,000 回転 10 分遠沈後, ミリポアフィルター (0.45 μ) を通し以後の実験にもちいた。

5) 間接膜蛍光抗体法

抗 NALL-1 血清と被検細胞との反応は, 全て膜蛍光抗体間接法で観察した。被検細胞と抗血清を 4°C30分反応させ, 続いて FITC 標識ヤギ anti-rabbit IgG (Hayland, Los Angeles) を 4°C30分反応させた。落射型蛍光顕微鏡にて, 1,000倍で生細胞 200以上を観察し, 結果は蛍光色素陽性細胞を percent で示した。

6) 細胞表面マーカー

a) E, EAC rosette

Jondal と Kline の方法⁷⁾に準じて, T-cell marker として E-rosette を, B-cell marker として EAC-rosette 形成能を検討した。E-rosette には洗浄羊赤血球を, EAC-rosette には牛赤血球に家兎抗牛赤血球 IgM 抗体および新鮮マウス血清を反応させ, indicator cell とした。

b) 細胞表面 immunoglobulin (sIg)

膜蛍光抗体直接法にて検討した。即ち, 細胞を phosphate buffered saline (PBS) で洗浄後, FITC 標識ヤギ抗人 immunoglobulin (Hayland, Los Angeles) を 4°C30分反応させ, 落射型蛍光顕微鏡で観察した。

c) 人 thymus-leukemia antigen (HTLA) と B-cell 型株細胞共通抗原 (B-LCLA) の検出家兎抗 HTLA 血清および家兎抗 B-LCLA 血清は, 坪田らの作製したものを使用し膜蛍光抗体間接法により判定した。抗 HTLA 血清は, 家兎抗 MOLT-4 (T-ALL 株細胞) 血清を, B-cell 株細胞と正常人末梢リンパ球で吸収し作製したもので, thymocyte, T-ALL 細胞と反応するが, 末梢 T-, B-cell とは反応しなかった⁸⁾。抗 B-LCLA 血清は家兎抗 B-411-4 (正常 B-cell 株細胞) 血清を T-cell 株細胞で吸収し作製したもので, B-cell 株細胞, 慢性リンパ球性白血病 (CLL) 細胞, null-ALL 細胞, B-cell と反応するが, T-cell, T-ALL 細胞, T-ALL 株細胞とは反応しないものである⁹⁾。2 次抗血清は, FITC 標識ヤギ抗家兎 IgG (Hayland, Los Angeles) をもちい, 反応は全て 4°C30分おこなった。

表 1. 抗 NALL-1 血清の吸収とその反応性の変化

被 検 細 胞	吸収抗 NALL-1 血清の反応 (%)		
	吸 収 細 胞		
	正常人赤血球 + 正常人肝細胞	正常人赤血球 + 正常人肝細胞 + BALL-1細胞	正常人赤血球 + 正常人肝細胞 + BALL-1細胞 + TALL-1細胞
BALL-1	100	0	0
TALL-1	100	35	0
NALL-1	100	100	100

表 2. 正常人末梢血リンパ球に対する吸収抗 NALL-1 血清の反応

供 血 者	表面マーカー陽性率 (%)		吸収抗 NALL-1 血清 陽性細胞 (%)
	E-rosette	sIg	
S.M.	53	5	3.0
T.H.	49	16	1.0
M.K.	34	9	1.0
K.A.	32	6	1.3
J.U.	56	5	3.0
T.O.	59	5	5.0
J.U.*	—	—	4.7
T.O.*	—	—	4.2

*PHA-M (1/100) で 3 日間末梢血リンパ球を培養

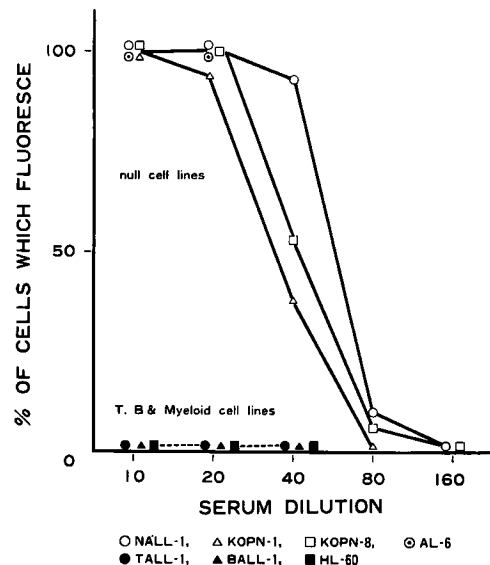


図 1. 吸収抗 NALL-1 血清の各種白血病株細胞に対する反応性

表 3. 吸収抗 NALL-1 血清のリンパ球性白血病細胞に対する反応

Patient (Age-Sex)	Diagnosis	Source of test cells	Blast (%)	E-rosette positive cells (%)	Surface Ig positive cells (%)	Cells reacted with Anti-NALL-1 serum (%)
A. F. (20-F)	null-ALL	PB	75	8.0	0	94.0
H. Y. (53-M)	"	"	86	0	0	40.0
K. H. (58-F)	"	"	65	5.3	0	97.0
T. D. (29-M)	"	"	70	31.7	6.5	70.0
T. M. (15-M)	"	"	97	2.8	0	89.0
S. E. (65-F)	"	"	94	1.1	0.9	98.0
T. O. (32-M)	"	"	96	0	1.3	97.0
K. M. (40-M)	"	"	95	0	1.9	98.5
S. Y. (74-F)	"	"	93	3.7	0	97.5
<hr/>						
I. I. (29-F)	"	"	60	11.9	4.1	3.9
K. T. (19-M)	"	"	88	7.9	3.1	1.0
K. N. (33-F)	"	"	88	4.1	3.4	6.5
S. I. (46-M)	Adult T-Leu	"	63	88.3	3.5	0
K. S. (71-M)	"	"	88	64.9	1.0	1.3
J. K. (36-M)	"	"	78	81.9	2.5	3.5
Y. S. (72-F)	B-ALL	"	91	0	89.0	0
U. K. (62-F)	B-CLL	"	96	1.0	97.0	0
K. U. (68-F)	"	"	89	11.0	87.0	16.5
I. N. (56-M)	"	"	98	3.9	77.9	5.0

PB: peripheral blood Adult T-Leu: Adult T-Leukemia

表 4. 吸収抗 NALL-1 血清陰性 Null-ALL の 3 例

Patient (Age-Sex)	Reaction with ;		Remarks
	Anti-HTLA	Anti-B-LCLA	
I. I. (29-F)	-	+	Hand-mirror cell leukemia good clinical course
K. T. (19-M)	-	+	Atypical null-ALL Giant splenomegaly
K. N. (33-F)	-	+	Atypical null-ALL Giant splenomegaly

表5. 吸収抗 NALL-1 血清の CML の急転時および慢性期細胞に対する反応

Patient (Age-Sex)	Source of test cells	Blast (%)	E-rosette positive cells (%)	Surface Ig positive cells (%)	Cells reacted with Anti-NALL-1 serum (%)
S. K. (62-F)	BM	86	0.7	9.5	88.8
T. T. (45-M)	//	88	1.1	3.2	92.2
Y. U. (30-M)	//	66	5.6	11.5	78.4
E. F. (60-F)	PB	90	0	0	87.9
E. N. (32-F)	BM	67	1.1	15.0	4.0
T. I. (31-M)	PB	77	1.4	8.2	10.9
S. A. (44-M)	//	51	1.6	8.5	11.0
M. T. (32-M)	//	20	0.8	0.9	0.9
T. Y. (17-M)	//	26	1.2	16.1	7.4
I. M. (29-F)	BM	14	7.7	3.6	1.3
R. K. (43-F)*	PB	5	0	0	1.2
K. A. (42-F)*	//	1	6.0	0	2.0
T. N. (45-F)*	//	1	1.0	0	1.7
K. I. (46-F)*	//	0	28.5	20.9	0

* : CML in chronic phase, BM : bone marrow PB : peripheral blood

表6. CML-BC 症例の吸収抗 NALL-1 血清の反応性と TdT, VP 療法の効果ならびに細胞形態の比較

Patient (Age-Sex)	Reaction with Anti-NALL-1 serum	TdT * (u/10 ⁶ /h)	Effectiveness of vp treatment	Morphology
S. K. (62-F)	+	43.30	Yes	Lymphoid
T. T. (45-M)	+	8.48	Yes	Lymphoid
Y. U. (30-M)	+	10.99	Yes	Lymphoid
E. F. (60-F)	+	not done	Yes	Lymphoid
E. N. (32-F)	-	10.45	Yes	Myeloid
S. A. (44-M)	-	2.3	Yes	Myeloid
T. Y. (17-M)	-	3.21	Yes	Myeloid
R. K. (43-F)	-	0.75	Yes	Myeloid
I. M. (29-F)	-	0.08	No	Myeloid
M. T. (32-M)	-	0.64	No	Myeloid

* : TdT¹⁰¹ 活性は田中らに依頼し測定した。

表7. 吸収抗 NALL-1 血清の非リンパ球性白血病細胞との反応

Patient (Age-Sex)	Diagnosis	Source of test cells	Blast (%)	E-rosette positive cells (%)	Surface Ig positive cells (%)	Cells reacted with Anti-NALL-1 serum (%)
K. K. (27-M)	AML	PB	92	0.2	0.9	0
H. O. (73-M)	"	"	79	1.6	9.8	0.3
H. M. (30-F)	"	"	93	1.3	1.0	0
S. K. (46-M)	"	"	81	1.7	8.2	1.2
N. O. (67-F)	"	"	95	4.0	0	0
M. H. (63-M)	AMoL	"	30	0	0	0
G. O. (62-M)	Ery. Leu. in leukemic phase *	"	94	6.1	1.7	1.5

* Ery. Leu : Erythroleukemia

PB : peripheral blood

結 果

抗 NALL-1 血清の吸収による反応性の変化
表1に吸収による抗 NALL-1 血清と、NALL-1, TALL-1 および BALL-1 細胞との反応性の変化を示した。人赤血球と人肝細胞で吸収後は、BALL-1, NALL-1 および TALL-1 細胞と100% 反応を呈した。BALL-1 細胞による吸収後は、BALL-1 細胞とは反応せず、TALL-1 細胞と35%、NALL-1 細胞とは100%の陽性反応を示した。さらに、TALL-1 細胞で吸収後、BALL-1, TALL-1 細胞とはまったく反応せず、NALL-1 細胞とのみ反応する抗血清を得た。この吸収抗 NALL-1 血清をもちいて以下の検討を行った。

正常人末梢リンパ球および PHA 芽球との反応

6人の正常人末梢リンパ球および、その内2例の PHA 芽球と吸収抗 NALL-1 血清の反応は、表2に示すように最も高いもので5%で、PHA 芽球に対してはともに4.7%、4.2%陽性で、いずれもその陽性率は低値であった。この結果より吸収抗 NALL-1 血清は大多数の正常リンパ球ならびに PHA 芽球とは反応しないことが示された。

培養株細胞に対する反応

図1に示すように、吸収抗 NALL-1 血清は、1:20以下の希釈において null-ALL 株細胞の

NALL-1, KOPN-1, KOPN-8 および AL-6 細胞と有意に反応したが、T-ALL 株細胞の TALL-1 細胞、B-ALL 株細胞の BALL-1 細胞、APL 株細胞の HL-60 細胞とは反応しなかった。この結果より、以下の実験では吸収抗 NALL-1 血清は全て1:10希釈とし用いた。

リンパ球性白血病細胞との反応

12例の null-ALL 3例の成人T細胞性白血病(ATL)、1例の B-ALL および3例の B-CLL について検討した(表3)。この結果、null-ALL の9例では有意の反応が認められたが、他の null-ALL 3例とは反応しなかった。さらに ATL, B-ALL および B-CLL は反応しなかった。null-ALL の内、吸収抗 NALL-1 血清と反応しなかった3例については、表4に示すように、いずれも HTLA 陰性、B-LCLA 陽性であったが、その内の1例は形態学的に Hand-mirror cell leukemia と診断され経過は良好であり、他の2例は巨脾を有し臨床的には、通常の null-ALL と異っていた。これらの結果は、null-ALL として B ないし T-cell 型より区別されている ALL には、さらに吸収抗 NALL-1 血清と反応する group と反応しない group の2つの subgroup が存在している可能性が示唆された。

CML の急転時および慢性期細胞との反応

表8. 吸収抗 NALL-1 血清の悪性リンパ腫細胞との反応

Patient (Age-Sex)	Source of test cells	cell type	Tumor cell (%)	E-rosette positive cells (%)	Surface Ig positive cells (%)	Cells reacted with Anti-NALL-1 serum (%)
S. H. (28-M)	Ascites	Null	95	1.0	10.7	86.0
	BM	"	90	2.0	4.0	65.0
K. Y. (60-F)	PB	"	42	0	1.0	76.4
T. O. (24-M)	BM	"	73	4.0	5.0	1.0
R. Y. (27-M)	PE	"	81	17.9	4.0	1.9
K. Y. (59-M)	PB	T	25	72.0	3.0	3.0
T. U. (40-M)	PB	B	61	9.2	94.0	13.5
K. Y. (6-M)	Ascites	"	100	0	95.0	0
H. K. (45-M)	LN	"	80	11.7	68.5	9.8

BM: bone marrow, LN: lymph node, PE: pleural effusion, PB: peripheral blood

急転時10例, 慢性期4例のCMLについて検討した(表5)。吸収抗 NALL-1 血清との反応は, CML-BCの4例では, 88.8%, 92.2%, 78.4%, 83.9%と顕著であったが, CML-BCの他の6例およびCMLの慢性期の細胞とは有意な反応を示さなかった。

CML-BC患者についてさらにCML-BC細胞の形態, TdT活性値およびVP療法の効果を検討した(表6)。形態的にリンパ芽球と判定された4例は吸収抗 NALL-1 血清と有意な反応を示したが, 骨髄芽球と判定された6例は反応を示さなかった。TdT活性値については, 吸収抗 NALL-1 血清と有意な反応を示した4例の内, 検討できた3例は高値を示したが, 反応しなかった6例中の1例も高値であった。また, VP療法については, 吸収抗 NALL-1 血清と反応しなかった2例以外は全て有効と判定された。

非リンパ球性白血病細胞との反応

5例の急性骨髄性白血病(AML), 1例の急性単球性白血病(AMoL), 1例の赤白血病の白血病期の細胞について吸収抗 NALL-1 血清との反応性を検討した。表7に示すようにいずれの細胞とも有意な反応がみられず, これらの白血病細胞は, 抗 NALL-1 血清が認識する抗原を発現

していないことが示された。

悪性リンパ腫細胞との反応

表8に示すように, 8例のNon-Hodgkin's lymphoma (NHL)細胞との反応性を検討した。この内, null-cell typeは4例, T-cell type 1例およびB-cell type 3例であった。この結果, null-cell typeのNHL 4例中2例と有意な反応がみられたが, T-cellおよびB-cell typeのNHLとは反応がみられなかった。

考 察

白血病細胞の膜抗原性の研究を目的として, 教室にて樹立されたnull-ALL株細胞(NALL-1)に対する家兎抗血清を作製し, 吸収後, B-ALL株細胞(BALL-1)およびT-ALL株細胞(TALL-1)とは反応せず, NALL-1細胞とのみ反応する抗血清を得た。この吸収抗 NALL-1 血清の反応抗原が, ALL腫瘍関連抗原であるか否かを知る目的で種々の腫瘍細胞との反応性を検討した。

この結果, 吸収抗 NALL-1 血清は, null-ALL, CML-BC, null-NHL細胞ならびに null-ALL株細胞に反応し, 一方, AML, AMoL, 赤白血病, CLL, ATL細胞およびT-ALL株細胞, B-ALL株細胞, APL株細胞には反応せず, この

抗血清の反応抗原が null-ALL, CML-BC のリンパ芽球ならびに null-NHL に共通して存在する null-cell type leukemia-lymphoma 関連抗原であることが示された。しかし、この抗原は正常人末梢血のごく少数の細胞においても認められるものであり、腫瘍特異抗原である可能性は否定的である。

Greaves らは、ALL 患者の新鮮白血病細胞を免疫源として、家兎抗血清を作製し検討を行った結果、この抗血清は ALL 19 例中 14 例、CML-BC 5 例中 4 例と有意な反応を示し、この抗血清が認識する抗原を common ALL 抗原 (CALLA) と名付け、ALL, CML-BC に共通する抗原であると報告した¹¹⁾。ALL, CML-BC に対する反応の頻度は異なるが、今回の吸収抗 NALL-1 血清の反応パターンとよく一致するものであり、吸収抗 NALL-1 血清の反応抗原は、Greaves らの CALLA とほぼ同一のものと考えられた。

一方、Koshiba らは、Ph⁺ 陽性の CML-BC 由来の株細胞 (NALM-1) に対する家兎抗血清を用いて同様の検討を行い、null-ALL 5 例中 5 例、null-cell 株細胞 4 例中 4 例、B-cell 株細胞 4 例中 2 例および T-cell 株細胞 6 例中 4 例と有意な反応を認め報告した。null-ALL, null-cell 株細胞および CML-BC に対する反応性は、Greaves らの報告および今回の吸収抗 NALL-1 血清と同様である。しかし、この結果は、CALLA が B および T-cell 系腫瘍にも存在する可能性を示唆しており、この点についてはさらに今後の検討が必要と思われる。

次いで、この吸収抗 NALL-1 血清が認識する抗原についてさらに検討を加える。吸収抗 NALL-1 血清が、白血病性 T, B 株細胞である TALL-1, BALL-1 および PHA 刺激リンパ芽球と反応しなかった事より、細胞分裂期に出現するとされている cell cycle antigen¹³⁾ とは異なる抗原であり、さらに、TALL-1 細胞に認められる HTLA, BALL-1 細胞に認められる HLA-DR (Ia-like 抗原) とは直接には関連しない抗原と考えられた。しかし、正常人リンパ球の中にも少数ながら吸収抗 NALL-1 血清と反応するものが明らかに存在した事より、この抗原は正常細胞にも存在する抗原であり、腫瘍特異抗原とは考えがたい。

Greaves ら¹⁴⁾は、CALLA が胎生期および正

常人の骨髄にも存在する事を示し、この抗原が正常造血細胞の早期分化抗原である可能性を報告している。今回の検討で正常リンパ球の中にも吸収抗 NALL-1 血清と反応する細胞が存在した事は、末梢血液にも少数出現しているとされる造血幹細胞と吸収抗 NALL-1 血清が反応した可能性が考えられるが、この点についてはさらに詳細な検討が必要と思われる。

次に、吸収抗 NALL-1 血清と反応のみられた null-ALL, CML-BC および NHL について検討する。null-ALL では 12 例中 9 例がこの吸収抗 NALL-1 血清と反応したが、3 例は反応しなかった。反応しなかった 3 例の内の 1 例は形態的に Hand-mirror cell leukemia と診断され、他の 2 例は巨脾を伴ない、通常の null-ALL とは異なる症例であった。この事は、null-ALL として B ないし T-cell 型より区別されている ALL にはさらに吸収抗 NALL-1 血清陽性と陰性の 2 つの subgroup が存在している可能性を示唆している。Greaves ら¹⁵⁾は抗 ALL 血清を用いて小児の non-T/non-B ALL について検討を行い、小児の non-T/non-B ALL には CALLA 陽性の common ALL と CALLA 陰性の null-ALL の 2 つの group が存在すると報告したが、今回の吸収抗 NALL-1 血清の検討はこれと一致する。

CML-BC については、検討した 10 例中、吸収抗 NALL-1 血清と有意な反応を示した 4 例は形態的にはリンパ芽球で、その内の検討できた 3 例は TdT 活性高値であった。一方、反応しなかった 6 例は形態的には骨髓芽球であり、その内の 5 例は TdT 活性低値であった。この結果は、CML-BC には、TdT 活性高値の lymphoid type と TdT 活性低値の myeloid type の 2 つの型があるというこれまでの報告¹⁶⁾と矛盾しない。さらに、lymphoid type の BC は VP 療法が有効であると言われていたが、今回の検討では 4 例の吸収抗 NALL-1 血清反応例は全て VP 療法が有効であった。

以上の結果は今回作製したこの吸収抗 NALL-1 血清が、TdT 活性とともに CML-BC の lymphoid crisis と myeloid crisis という 2 つの型の分類上、有用な指標となりうるものであることが示された。

NHLについては、null-NHLの2例が吸収抗NALL-1血清と有意に反応した。この事は、null-NHLにもnull-ALL, CML-BCのlymphoid typeと共通する抗原が存在し、吸収抗NALL-1血清の反応抗原が、null-cell type leukemia-lymphoma共通抗原であることが判明した。

今回、家兎抗NALL-1血清により白血病細胞の膜抗原性を研究し、null-ALL, lymphoid typeのCML-BCおよびnull-NHLに共通する抗原が存在することを示した。これまで明らかな表面マーカーを持たなかったこれらの細胞の指標として、吸収抗NALL-1血清は非常に有用と考えられる。

近年、Ritzら¹⁷⁾は、CALLAに対するモノクローナル抗体の作製に成功し報告したが、今後これらモノクローナル抗体を用いた解析によりnull-cell type leukemia-lymphoma関連抗原の詳細がより明らかになると期待される。

結 論

Null-ALL細胞株(NALL-1)に対する家兎抗血清を作製し、十分な吸収後、この吸収抗NALL-1血清は、null-ALL細胞、慢性骨髄性白血病の急転(CML-BC)リンパ芽球および

null-NHL細胞と特異的に反応し、この抗血清の反応抗原がnull-ALL, CML-BCのリンパ芽球ならびにnull-NHLに共通し存在するleukemia-lymphoma関連抗原であることが示された。さらにこの抗血清の各種リンパ系腫瘍細胞に対する反応パターンはGreavesらの報告と一致するものであり、今回報告した抗原はいわゆるcommon ALL抗原とほぼ同一のものと考えられた。

吸収抗NALL-1血清が認識する抗原は、正常末梢血のごく少数の細胞にも存在するものであり、leukemia-lymphoma特異腫瘍抗原とは言えないが、既知の表面マーカーを持たないnull-cell系腫瘍の指標となりうるものであり、この吸収抗NALL-1血清は、かかるリンパ系腫瘍の診断に有用と考えられた。

謝 辞

本論文を撰筆するにあたり、御懇意なる御指導ならびに御校閲を賜った恩師木村郁郎教授に深甚の謝意を表します。また終始御指導を賜った坪田輝彦講師に深謝します。

なお本論文の要旨は第37回日本癌学会総会において発表した。

文 献

1. Hiraki, S., Miyoshi, I., Kubonishi, I., Matsuda, Y., Nakayama, T., Kishimoto, H. and Masuji, H. Human leukemic "null" cell line (NALL-1) *Cancer* 40, 2131-2135, 1977.
2. 宇野順三郎: Null-cell 白血病細胞株(NALL-1)の抗原性に関する研究, 第1編リンパ球と白血病細胞混合培養による検討. 岡山医学会雑誌, 93, 481-487, 1981.
3. Hiraki, S., Miyoshi, I., Kubonishi, I., Matsuda, Y., Nakayama, T., Kishimoto, H., Machida, K., Masuji, H. and Kimura, I.: Establishment of a T-cell line from human lymphosarcoma. *Gann* 69, 115-118, 1978.
4. Hiraki, S., Miyoshi, I., Masuji, H., Kubonishi, I., Matsuda, Y., Nakayama, T., Kishimoto, H., Chen, P. and Kimura, I.: Establishment of an Epstein-Barr virus-determined nuclear antigen negative human B-cell line from acute lymphoblastic leukemia. *J. Natl. Cancer Inst.* 59, 93-94, 1977.
5. Gallagher, R., Collins, S., Trujillo, J., McCredie, K., Ahearn, M., Tsai, S., Metzgar, R., Aulakh, G., Ting, R., Ruscetti, F., and Gallo, R.C.: Characterization of the continuous, differentiating myeloid cell line (HL-60) from a patient with acute promyelocytic leukemia. *Blood* 54, 713-733, 1979.
6. 辻 公美: "免疫実験操作法, I, 日本免疫学会編" p.265, 1971.
7. Jondal, M. and Klein, G.: Surface markers on human B and T lymphocytes. *J. Exp. Med.* 138, 1365-1378, 1973.

8. Tsudota, T., Minowada, J., Nakazawa, S., Sinks, L.F., Han, T., Higby, R.J. and Pressman, D.: Correlation of surface markers of cells of human lymphatic leukemias with disease type. *J. Natl. Cancer Inst.* **59**, 845—850, 1977.
9. Tsudota, T., Minowada, J. and Pressman, D.: Reaction of T-lymphoid and B-lymphoid cell lines with rabbit antisera against these lines. *J. Natl. Cancer Inst.* **59**, 399—404, 1977.
10. Tanaka, M., Kaneda, T., Hirota, Y., Yoshida, S. and Kitajima, K.: Terminal deoxynucleotidyl transferase in the blastic phase of chronic myelogenous leukemia: An indicator of response to vincristine and Prednisolone therapy. *Am. J. Hematol.* **9**, 287—293, 1980.
11. Greaves, M.F. and Brown, G.: Antisera to acute lymphoblastic leukemia cells. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **4**, 67—84, 1975.
12. Koshiba, H., Minowada, J. and Pressman, D.: Rabbit antiserum against a non-T, non-B leukemia cell line that carries the Ph' chromosome (NALM-1): Antibody specific to a non-T, non-B acute lymphoblastic leukemia antigen. *J. Natl. Cancer Inst.* **61**, 987—991, 1978.
13. Thomas, D.B. and Phillips, B.: Membrane antigens specific for human lymphoid cells in the dividing phase. *J. Exp. Med.* **138**, 64—70, 1973.
14. Greaves, M.F., Delca, D., Janossy, G., Rapson, N., Chessells, J., Woods, M. and Prentice, G.: Acute lymphoblastic leukemia associated antigen IV. Expression on non-leukemic lymphoid cells. *Leukemia Res.* **4**, 15—32, 1980.
15. Chessells, J.M., Hardisty, R.M., Rapson, N.T. and Greaves, M.F.: Acute lymphoblastic leukemia in children: classification and prognosis. *Lancet* **2**, 1307—1309, 1977.
16. Jonossy, G., Roberts, M. and Greaves, M.F.: Target cell in chronic myeloid leukemia and its relationship to acute lymphoid leukemia. *Lancet* **2**, 1058—1060, 1976.
17. Ritz, J., Pesando, J.M., Notis-McConarty, J., Lazarus, H. and Schlossman, S.F.: A monoclonal antibody to human acute lymphoblastic leukemia antigen. *Nature* **283**, 583—585, 1980.

Studies on antigens of a leukemic null-cell line(NALL-1)**II. A leukemia-lymphoma associated antigen detected
by rabbit anti-NALL-1 serum.****Junzaburo UNO****Second Department of Internal Medicine,****Okayama University Medical School.****(Director: Prof. I. Kimura)**

Rabbit antiserum was raised against leukemic null-cell line, NALL-1. After absorptions with normal human red blood cells, normal human liver cells and established leukemic T-cells (TALL-1) and B-cells (BALL-1), the antiserum reacted specifically with leukemic null-cell lines (NALL-1, KOPN-1, KOPN-8 and AL-6), but not with cells of TALL-1, BALL-1 and an acute promyelocytic leukemic cell line (HL-60). This absorbed anti-NALL-1 serum also reacted with 9 out of 12 null-acute lymphoblastic leukemia cells, 4 of 10 chronic myelogenous leukemia cells in blastic crisis and 2 of 4 null-non-Hodgkin's lymphoma cells, but not with other leukemic cells. The reactivities of the antiserum against normal peripheral blood mononuclear cells and PHA-stimulated blasts were less than 5%.

These results indicate that the antigen defined by the absorbed anti-NALL-1 serum is a null-cell type leukemia-lymphoma associated antigen, but not a specific one. Thus the antiserum is a useful marker for the diagnosis of null-cell type leukemia and lymphoma.