

原 著

## ツベルクリンアレルギーに関する研究

第1編 ツベルクリン反応発現に関与する感作細胞の機能と  
皮内反応部位の浸潤細胞との相関関係について

大 山 口 渥

京都大学結核胸部疾患研究所内科学第2部門

受付 昭和56年7月2日

## STUDIES ON MECHANISMS OF TUBERCULIN HYPERSENSITIVITY

I. The Relation between the Functions of Cells Mediating  
Tuberculin-Type Hypersensitivity (TTH) and the  
Infiltrating Cells in Skin Reaction Site

Atsushi OYAMAGUCHI\*(Director: Shunsaku OSHIMA)

(Received for publication July 2, 1981)

There are two types of cell populations which mediate the tuberculin hypersensitivity: sensitized T lymphocytes and non-specific accessory cells. The present study was undertaken to elucidate the identity of cells which can transfer tuberculin hypersensitivity, those which produce the macrophage migration inhibitory factor (MIF), and those which produce the leucocyte migration inhibitory factor (LIF). In addition, it was studied that the relation between the MIF or LIF producibilities of transferred sensitized cells and the composition of infiltrating cells in the skin reaction site in normal (non-irradiated) or irradiated (800 rad) recipients.

The results were as follows:

1. The ability of tuberculin-type hypersensitivity (TTH) transfer, MIF production and LIF production were equally prominent in the regional lymph node cells of guinea pigs vaccinated (V group) with heat-killed BCG.
2. The ability of TTH transfer and LIF production were prominent, but MIF production was not detected in the spleen cells of the V group.
3. The ability of TTH transfer and MIF production was detected in the regional lymph node cells of guinea pigs vaccinated and challenged (VC group) with heat-killed BCG, but that ability was weaker than that of regional lymph node cells of the V group. Leucocyte migration stimulating activity was observed in the regional lymph node cells of the VC group, but LIF production was not seen there.
4. The ability of TTH transfer was most dominant in the spleen cells of the VC group. MIF production was also detected in the spleen cells, and was equal to that of the regional lymph node cells of the VC group. Leucocyte migration stimulating activity, but not LIF production, was observed in the spleen cells of the VC group, as was the case in the regional lymph node cells of the VC group.

\*From the Chest Disease Research Institute, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606 Japan.

5. In the skin lesions of the PPD test on normal or  $^{60}\text{Co}$ -irradiated (800 rad) recipients, the number of infiltrating non-specific accessory cells, i. e., mononuclear cells or polymorphonuclear leucocytes, was not histopathologically parallel with the MIF or LIF producibilities of transferred sensitized regional lymph node cells or spleen cells of the V group.

6. The PPD-skin lesions of  $^{60}\text{Co}$ -irradiated (800 rad) recipients were macroscopically more prominent than those of normal (non-irradiated) recipients transferred with sensitized regional lymph node cells or with spleen cells of the V group. However, the total number of infiltrating cells in the skin lesions of irradiated recipients decreased to about half of the number in those of normal (non-irradiated) recipients.

It was concluded that the ability of TTH transfer *in vivo* and the ability of MIF production *in vitro* are not always parallel, and that the ability of TTH transfer *in vivo* is parallel with the ability of each of LIF or leucocyte migration stimulating factor production *in vitro*, and that the total number of infiltrating cells in skin reaction site was not always correlated with the size of the skin reaction, but the number of infiltrating cells in the skin reaction site was strongly controlled by the total number of mobile cells in each animals.

## I. 緒 言

ツベルクリン反応は遅延型反応 (DTH) の代表的反応として知られている。その反応機構は導入 (afferent limb) と発現 (efferent limb) の2段階に分けられる。efferent limb は2種類の細胞群によつて発現されることは一般に認められている<sup>1)</sup>。1つは抗原特異的な感作細胞で、他は non-specific accessory cell である。

感作細胞に関しては1910年に Bail<sup>2)</sup> はツベルクリン皮内反応の発現には感作動物の脾臓あるいはリンパ節の生細胞が必要であることを受身伝達実験によつて初めて証明し、1945年に Chase<sup>3)</sup> はツベルクリン感受性伝達活性が脾臓、リンパ節および腹腔滲出細胞に存在することを報告した。一方、遅延型反応の発現には種々のリンホカインが関与することが知られている。感作動物の脾細胞が *in vitro* において特異的抗原の存在下に白血球遊走阻止現象を起こすことが比較的早くから知られていた<sup>4)-6)</sup>。この事実より1962年に George<sup>7)</sup> は DTH における *in vitro* の指標として、毛細管法によるマクロファージ遊走阻止試験 (MMIT) を考案し、1967年に Soborg<sup>8)9)</sup> は白血球遊走阻止試験 (LMIT) を開発した。その後 David<sup>10)</sup> は MMIT について、Mookerjee<sup>11)</sup> は LMIT において、いずれもその測定成績が *in vivo* における皮内反応と相関すると報告した。さらに1966年に David<sup>12)</sup> と Bloom<sup>13)</sup> は *in vitro* においてマクロファージの遊走を阻止するリンホカインが感作細胞と抗原とを培養することにより産生されることを見出しこれを Macrophage migration inhibitory factor (MIF) と名付けた。また1973年に Clausen<sup>14)</sup> は *in vitro* で感作細胞と抗原とを培養したとき、白血球遊走を阻止するリンホ

カインが産生されることを見出した。このリンホカインは1974年に Rocklin<sup>15)</sup> により Leucocyte inhibitory factor (LIF) と命名され、MIF とは異なる物質であることが証明された。その後の実験成績より *in vitro* における MIF 活性<sup>16)</sup> あるいは LIF 活性<sup>17)18)</sup> が *in vivo* における皮内反応と密接な関連性を有するものと考えられるようになった。特に MIF は efferent limb における皮内反応発現のため感作細胞から分泌される non-specific accessory cell に対する mediator と考えられるに至つた<sup>19)</sup>。ところが一方では *in vivo* における皮内反応と *in vitro* における MMIT の成績とは一致しないという報告もあり<sup>20)-22)</sup>、MIF はまた DTH に関する以外に polyclonal activation によつてリンパ球系あるいは非リンパ球系の双方の細胞から産生されることも判明した<sup>23)-26)</sup>、そして MIF が皮内反応発現に関与する唯一のリンホカインではないという意見もだされるようになった<sup>27)</sup>。MMIT と同様に LMIT に関しても *in vivo* における皮内反応と相関しないという報告もあり<sup>28)29)</sup>、LIF は MIF と同様に DTH に関する以外に polyclonal activation によつて産生されることも判明した<sup>26)30)31)</sup>。以上より DTH における MIF あるいは LIF と皮内反応発現との関係についてはさらに究明が必要とされていた。

また non-specific accessory cell に関しては、これらの細胞は radiosensitive<sup>32)33)</sup> な骨髄由来の細胞であると考えられていた<sup>34)35)</sup>。ところが radiosensitive な骨髄由来の細胞の reconstitution なしに感作細胞と radio-resistant な細胞のみでも皮内反応が発現できたという報告もみられ<sup>36)-38)</sup>、遅延型皮内反応における non-specific accessory cell の性格および種類に関しても未解決の問

題が残っていた。

今回著者は、同じ感作細胞集団を用いて、ツベルクリン感受性伝達活性と *in vitro* における MIF 産生能あるいは LIF 産生能との相関関係について、2群の感作動物を用いて比較検討した。また以上の感作細胞を用いて、正常あるいはコバルト照射動物を recipient として、感作細胞の MIF あるいは LIF 活性と皮内反応部位における non-specific accessory cell すなわち単核球および多核白血球の浸潤程度との相関関係について病理組織学的に検討した。

## II. 実験材料ならびに方法

### 1. 実験動物および感作方法

実験動物は静岡県浜松実験動物センターより入手した雌ハートレー系モルモット(体重 300~350 g)を用いた。感作方法は両後足蹠へ BCG 死菌の乾燥重量 2mg を Freund の Adjuvant の形で各 1mg ずつ注射する局所感作と、局所感作後 4 週目に BCG 死菌の乾燥重量 1mg を 0.5 ml の生理食塩水に浮遊し、左心室内注入により全身投与(チャレンジ)する 2つの方法を用いた。両後足蹠感作後 4 週目でチャレンジをしていない感作モルモットを V 群と称し、4 週目のチャレンジ後 7 日目の感作モルモットを VC 群と称する。

### 2. 細胞浮遊液の作製方法

受身伝達実験およびマクロファージ(あるいは白血球)遊走阻止試験に用いた細胞群はすべて以下の同様の方法を用いて作製した。正常あるいは感作モルモットを心臓穿刺法により採血し、虚血死させたのち脾臓および所属(鼠径部)リンパ節を採取し、Eagle's minimal essential medium(MEM と略す, pH 7.2) 中でハサミで細かく切りぎみ、メッシュを通して細胞を分離した。細胞は群および臓器別にまとめ綿濾過した後、MEM で 3 回洗って使用した。

### 3. 受身伝達実験

上記の方法で得た細胞を、細胞数がそれぞれ  $1 \times 10^8$ /ml,  $5 \times 10^7$ /ml および  $1 \times 10^7$ /ml となるよう MEM を用いて作製し、その 1 ml を同系正常モルモットの心室内へ注射して全身投与する、いわゆる“Systemic passive transfer 法”を用いた。

### 4. ツベルクリン皮内テスト

受身伝達実験において、細胞移入後 24 時間目に、0.1 ml の生理食塩水に溶かした PPD の 10 $\mu$ g を皮内注射し、5 時間、24 時間および 48 時間目の発赤および硬結を測定した。

### 5. マクロファージ遊走阻止試験(間接法)および白血球遊走阻止試験(間接法)

i) 細胞培養上清(MIF および LIF)の調製方法:  
 $1.5 \times 10^7$  個の脾細胞あるいは所属(鼠径部)リンパ節細

胞(正常群の場合は頸部リンパ節細胞を使用)を、ストレプトマイシン 100 $\mu$ g/ml およびペニシリン 100 units/ml を含む、15%の馬血清を加えた TC 199 溶液(buffered with 20mM HEPES, pH 7.4, 以下 TC 199 と略す)の 3 ml に浮遊させ、PPD を 0, 20, 40 および 80 $\mu$ g/ml の割合に加え、5% CO<sub>2</sub> in air, 37°C で 48 時間培養した。培養後、細胞浮遊液を 3,000 rpm, 4°C で 30 分間遠沈して培養上清を得、使用するまで -20°C のフリーザーに入れて保存した。

ii) 腹腔滲出マクロファージの採集方法およびマクロファージ遊走阻止試験: David<sup>10)12)</sup>の方法に準じた松井<sup>39)</sup>の方法で行なった。流動パラフィン 20 ml を正常モルモットの腹腔に注入し、4 日後に心臓穿刺法にて全採血して虚血死させ、氷水で冷やした約 200 ml のハンクス液を用いて腹腔を洗浄し腹腔滲出細胞を採取した。細胞はハンクス液で 3 回洗った後、TC 199 を用いて 10%の細胞浮遊液に調整し、毛細管(直径 1.2~1.4 mm, 長さ 75 mm)に充填した。閉管部を下にして 1,200 rpm で 5 分間遠沈し、細胞と上清の界で毛細管を切断した。毛細管はマッカネス型チェンバー内にシリコングリース(Beckman)で 2 本ずつ固定し、パラフィンでカバーガラスを閉じた。上記の細胞培養上清をマッカネス型チェンバーの横穴から満たしてパラフィンで閉鎖し、37°C で 24 時間インキュベートし、腹腔滲出マクロファージを遊走させた。遊走面積は 2 本の平均をとった。なお腹腔滲出細胞は約 80%のマクロファージを含んでいた。

iii) 腹腔滲出好中球の採集方法および白血球遊走阻止試験: 0.2% sodium caseinate(pH 7.2)の 10 ml を正常モルモットの腹腔に注入し、3 時間後に心臓穿刺法により全採血して虚血死させた後、氷水で冷やした約 200 ml のハンクス液で腹腔を洗浄し、腹腔滲出細胞を採取した。細胞はハンクス液で 3 回洗った後、TC 199 を用いて 10%の細胞浮遊液とし、以下は前述のマクロファージ遊走阻止試験と同様の方法で行なった。なお腹腔滲出細胞は約 90%の好中球を含んでいた。

### iv) Migration Index(MI)の計算式:

$$MI(\%) = \frac{\text{PPDを加えた場合の細胞培養上清による遊走面積}}{\text{PPDを加えない場合の細胞培養上清による遊走面積}} \times 100 \\ = \frac{\text{PPDと培養液による遊走面積}}{\text{培養液による遊走面積}}$$

### 6. コバルト 60 の照射方法

島津製コバルト 60 照射装置(RTGS-2 型, 2,000 Ci)を用いて、受身伝達実験における細胞移入の 24 時間前に正常モルモットへ 800 rad を全身照射し、コバルト照射 recipient として使用した。

### 7. ツベルクリン皮内反応部位の病理組織学的検討

ツベルクリン皮内テスト後、5 時間、24 時間および 48 時間目に皮内反応の中心部位を切り取り、直ちにホルマ

リン固定した。固定後水洗し、パラフィン包埋して切片を切り、ヘマトキシリン・エオジン染色後、鏡検した。細胞浸潤の程度は正常動物の皮膚組織と同様、全く浸潤細胞が見られない場合を陰性(-)とし、感作した donor と同様に細胞浸潤が高度の場合を(卍)とした。その中間の反応を示す場合については、細胞浸潤が中等度に見られる場合を(卍), 細胞浸潤が軽度の場合を(+), 細胞浸潤がわずかに見られる場合を(±)として判定した。

### 8. 有意差の検定

Student t-test により行なつた。

## III. 実験成績

### 1. ツベルクリン感受性伝達実験

V群におけるツベルクリン感受性伝達細胞は受身伝達実験の結果、脾臓および所属(鼠径部)リンパ節の生細胞に認められた(Table 1 および 2)。以上のV群の脾細胞と所属リンパ節細胞の伝達活性を比較するため dose response 実験を行なつたところ、両者とも  $5 \times 10^7$  個以上の生細胞により正常 recipient に対してツベルクリン感受性を伝達することができ、両者の伝達活性の強さはほぼ同等であつた(Table 1)。

VC群におけるツベルクリン感受性伝達細胞は受身伝達実験の結果、脾臓および所属(鼠径部)リンパ節の生細胞に認められた(Table 2)。VC群の伝達活性をV群と比較した場合、脾細胞ではVC群の方が伝達活性が強く( $p < 0.01$ )、所属リンパ節細胞ではVC群の方が伝達活性は弱かつた( $p < 0.1$ ) (Table 2)。

2. V群あるいはVC群の脾細胞および所属(鼠径部)リンパ節細胞におけるMIFおよびLIF活性  
局所感作後4週目のV群においては、所属リンパ節細胞および脾細胞から共にツベルクリン感受性伝達活性が認められたが、MIF活性は所属リンパ節細胞と抗原と

Table 1. Results of Tuberculin Hypersensitivity in Non-irradiated or Irradiated Recipients Transferred with Living Spleen or Lymph Node Cells from V Group

Cells transferred*	No. of cells	Tuberculin reaction in recipients**			p-value
		After skin test	Non-irradiated	Irradiated	
Spleen cells	$1 \times 10^8$	24 hr	$13.1 \pm 1.2$	$15.4 \pm 1.1$	N.S. *** $p < 0.05$
		48 hr	$7.1 \pm 0.9$	$13.1 \pm 0.9$	
	$5 \times 10^7$	24 hr	$10.2 \pm 0.8$	$12.6 \pm 1.2$	N.S. $p < 0.05$
		48 hr	$5.6 \pm 1.4$	$10.8 \pm 1.7$	
	$1 \times 10^7$	24 hr	$6.9 \pm 1.0$	$7.5 \pm 0.9$	N.S. $p < 0.02$
		48 hr	$2.4 \pm 0.9$	$4.3 \pm 1.6$	
Lymph node cells	$1 \times 10^8$	24 hr	$11.7 \pm 0.5$	$13.7 \pm 0.4$	$p < 0.02$ N.S.
		48 hr	$9.3 \pm 0.7$	$11.1 \pm 0.7$	
	$5 \times 10^7$	24 hr	$10.0 \pm 1.1$	$11.5 \pm 0.6$	N.S. $p < 0.01$
		48 hr	$3.8 \pm 0.5$	$10.5 \pm 1.7$	
	$1 \times 10^7$	24 hr	$6.3 \pm 0.6$	$9.7 \pm 1.5$	N.S. $p < 0.02$
		48 hr	$3.2 \pm 1.1$	$7.6 \pm 1.0$	

\* Various number of cells were transferred to normal (non-irradiated) or irradiated (800 rad) recipients intravenously, and skin tests were performed with  $10 \mu\text{g}$  of PPD intradermally 24 hr later.

\*\* Mean diameter (mm) of six recipients  $\pm$  S.E.

\*\*\* N.S.: Not significant.

Table 2. Results of Tuberculin Hypersensitivity in Normal (Non-irradiated) Recipients Transferred with Living Spleen or Lymph Node Cells from V and VC group

Cells transferred	Tuberculin reaction (24 hr) in recipients*		p-value	
	Skin reaction**	Positive***/Total****		
Spleen cells	V group	$13.1 \pm 1.2$	6/7	$p < 0.01$
	VC group	$17.1 \pm 1.0$	14/14	
Lymph node cells	V group	$11.7 \pm 0.5$	9/9	$p < 0.1$
	VC group	$8.8 \pm 1.5$	3/5	

\* Skin tests were performed with  $10 \mu\text{g}$  of PPD intradermally 24 hr later. One hundred million ( $1 \times 10^8$ ) of cells were transferred to normal recipients intravenously.

\*\* Mean diameter (mm)  $\pm$  S.E.

\*\*\* Positive: Number of animals showed positive reactions more than 10 mm diameter.

\*\*\*\* Total: Total number of animals tested.



の培養上清に認められたが、ツベルクリン感受性伝達活性をもつ脾細胞と抗原の培養上清からは認められなかつた。VC群においては、前節の実験でツベルクリン感受性伝達活性をもつていた所属リンパ節細胞あるいは脾細胞と抗原との培養上清から共に中程度に MIF 活性が認められた (Fig. 1)。VC群における MIF 活性をV群と比較した場合、所属リンパ節ではVC群の MIF 活性は減弱し、脾細胞から新たに認められる結果であつた。

LIF 活性に関しては、ツベルクリン感受性伝達活性が認められたV群の所属リンパ節細胞および脾細胞と抗原との培養上清から、共に LIF 活性が明らかに認められた。しかしツベルクリン感受性伝達活性をもつ VC 群の所属リンパ節細胞あるいは脾細胞と抗原との培養上清から全く LIF 活性が認められなくなり、むしろ白血球遊走促進活性が認められるようになった (Fig. 2)。

3. 正常 (コバルト非照射) recipient におけるツベルクリン皮内反応部位の病理組織学的検討

皮内反応部位における感作細胞の機能と浸潤細胞との相関を比較検討するため、ツベルクリン感受性伝達活性および LIF 活性が同等に認められ、MIF 活性が異なるV群の脾細胞とV群の所属 (鼠径部) リンパ節細胞を用いて、正常 recipient へ受身伝達し、おのおののツベルクリン皮内反応部位に浸潤する細胞群について病理組織学的に検討した。

ツベルクリン皮内テスト後5時間、24時間および48時間の recipient の皮内反応の組織 (Fig. 3 および Fig. 4 に写真を示したが、Fig. 5 に schema としてまとめた) は脾細胞移入群および所属リンパ節細胞移入群の両者いづれも対照とした donor (V群) のツベルクリン皮内反応の組織 (Fig. 6 および Fig. 7 に写真を示したが、Fig. 8 に schema としてまとめた) と比較すると、好中球の浸潤の割合が軽度であつた。特に脾細胞移入群に比べ、所属リンパ節細胞移入群において、好中球浸潤減少の傾向が強かつた。in vitro における LIF 活性が脾細胞および所属リンパ節細胞の双方より同程度に見られたにもかかわらず、皮内反応部位における好中球の浸潤程度に差が認められたことは、ツベルクリン皮内反応における好中球の浸潤は LIF による以外に、他の因子の関与を示唆する所見であると考えられた。また in vitro において MIF 活性の見られなかつたV群の脾細胞を移入された recipient においても、MIF 活性が強く認められたV群の所属リンパ節細胞を移入された recipient においても、皮内反応部位における単核球の浸潤は同程度であつた。すなわち皮内反応部位における単核球の浸潤程度は in vitro における感作細胞より産生される MIF の活性とは必ずしも平行しないことが示された。

4. コバルト照射 (800 rad) recipient に対するツベルクリン感受性伝達実験

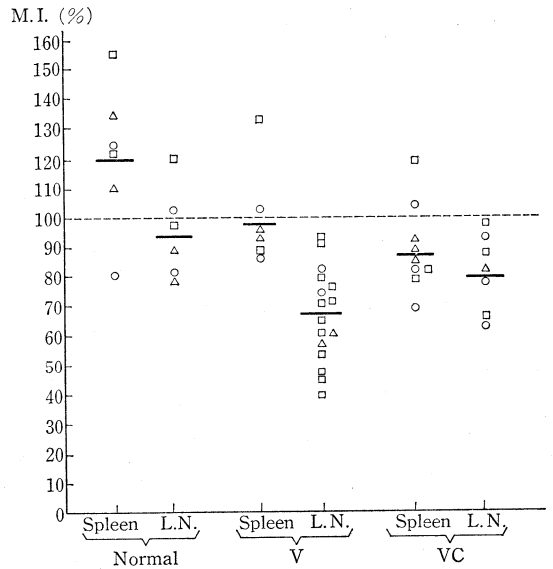


Fig. 1. Macrophage migration index (M.I. %) of peritoneal exudate Mφs from normal guinea pig in the presence of culture supernatant of spleen or lymph node (L. N.) cells with PPD (○: 20μg/ml, □: 40μg/ml, △: 80μg/ml) from normal-, V and VC group.

The horizontal lines represent the arithmetic mean of each group.

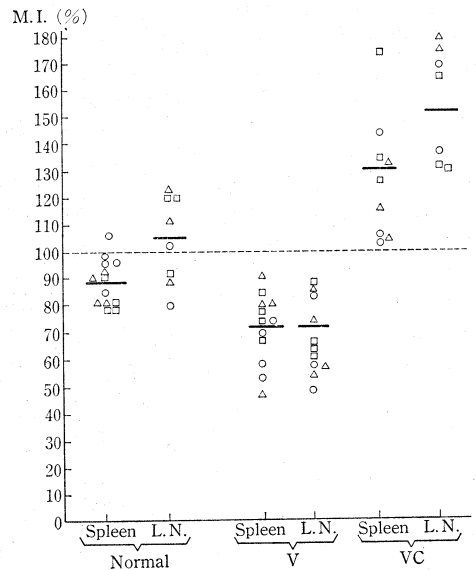


Fig. 2. Leucocyte migration index (M.I. %) of peritoneal exudate PMN from normal guinea pig in the presence of the culture supernatant of spleen or lymph node (L. N.) cells with PPD (○: 20μg/ml, □: 40μg/ml, △: 80μg/ml) from normal-, V and VC group.

The horizontal lines represent the arithmetic mean of each group.

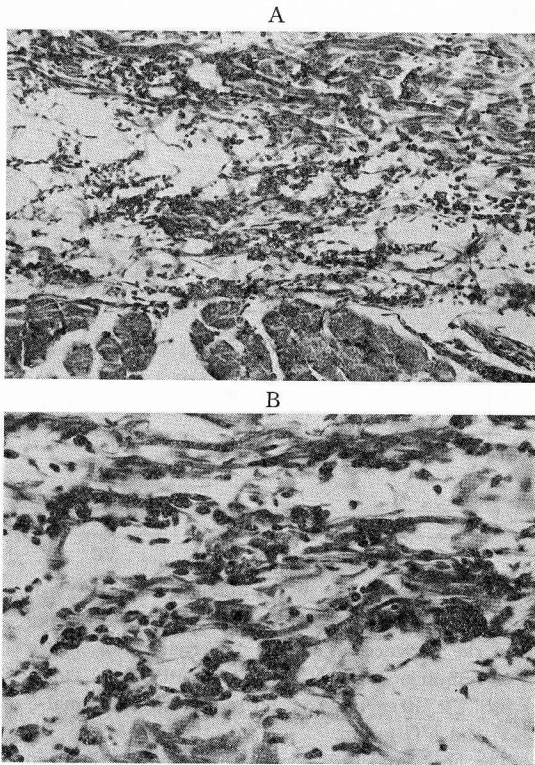


Fig. 3. Histological findings of tuberculin skin reaction in normal recipient transferred with  $1 \times 10^8$  of spleen cells from V group intravenously, and the skin test was performed with  $10 \mu\text{g}$  of PPD intradermally 24 hr later.

A. A moderate number of infiltrating mononuclear cells and neutrophils were seen in the reaction at 48 hr (diameter,  $10 \times 10$  mm). H. & E.  $\times 100$ .

B. A number of infiltrating mononuclear cells were about three times of that of neutrophils. H. & E.  $\times 200$ .

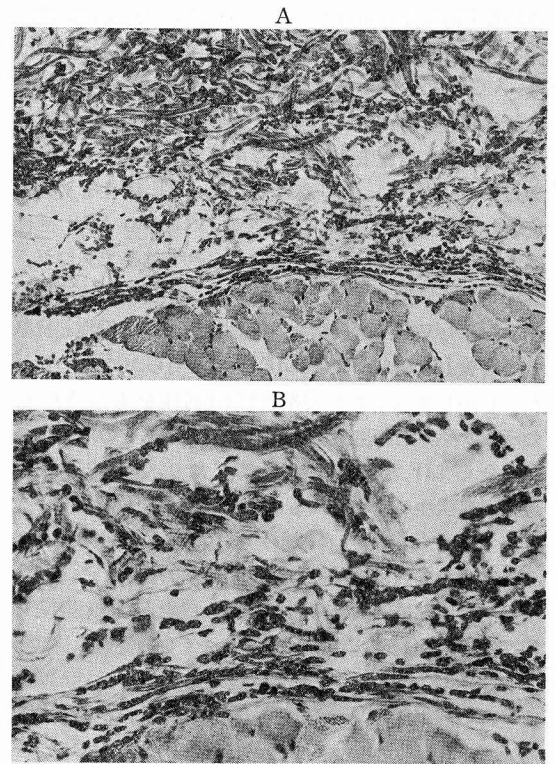


Fig. 4. Histological findings of tuberculin skin reaction in normal recipient transferred with  $1 \times 10^8$  of lymph node cells from V group intravenously, and the skin test was performed with  $10 \mu\text{g}$  of PPD intradermally 24 hr later.

A. A moderate number of infiltrating mononuclear cells and neutrophils were seen in the reaction at 24 hr (diameter,  $13 \times 16$  mm). H. & E.  $\times 100$ .

B. A number of infiltrating mononuclear cells were about five times of that of neutrophils. H. & E.  $\times 200$ .

ツベルクリン皮内反応発現に関与する感作細胞以外の non-specific accessory cell をできる限り減少させる目的で、recipient にあらかじめコバルト 60 を 800 rad 照射したのち受身伝達実験を行なった。コバルト 60 を 800 rad 照射されたモルモットにおける、照射後 1 日目の脾細胞の viability は 20~30% であった。これらのモルモットはそのまま放置しておいても、感作細胞を移入しても同様に、約 7 日目で全例死亡した。以上のコバルト照射 recipient を用い伝達実験の結果、V 群の脾細胞あるいは所属リンパ節細胞の  $5 \times 10^7$  個以上の生細胞によりツベルクリン感受性は伝達され、正常(非照射) recipient における場合と同様に、脾細胞と所属リンパ節細胞の伝達活性の強さはほぼ同等であった (Table 1)。また照射および非照射の recipient の差を比較すると、コバルト照射 recipient の皮内反応の方が非照射 recipient の反

応に比して著明であつた (Table 1)。

#### 5. コバルト照射 (800 rad) recipient におけるツベルクリン皮内反応部位の病理組織学的検討

ツベルクリン皮内反応部位における感作細胞の機能および皮内反応の発現機構を解析する目的で、ツベルクリン感受性伝達活性および LIF 活性が同等で MIF 活性の異なる V 群の脾細胞と所属リンパ節細胞を用い、コバルト照射 recipient へ移入し、皮内反応部位を組織学的に検討した。正常 (非照射) recipient の皮内反応の組織と比較した場合 (schema としてまとめた Fig. 5)、照射 recipient の皮内反応の組織所見は、たとえ正常 (非照射) recipient に比して皮内反応が大である場合においても、5 時間、24 時間および 48 時間とも、浸潤細胞総数は (約 1/2 程度) 著減していた (Fig. 9 および Fig. 10 に写真を示したが、Fig. 11 に schema としてまとめた)。

好中球の浸潤割合は、正常 recipient で見られたと同

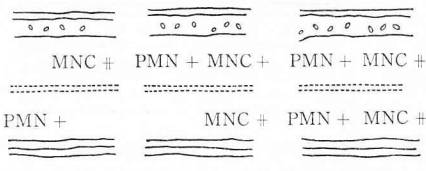
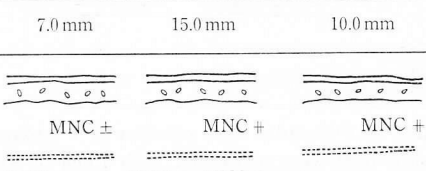
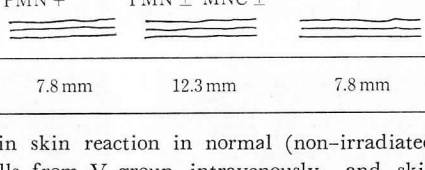
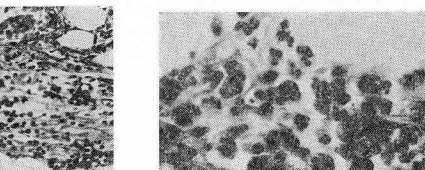
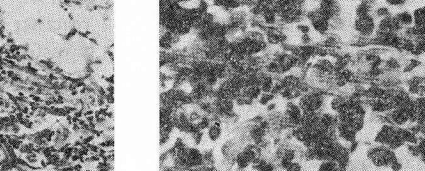
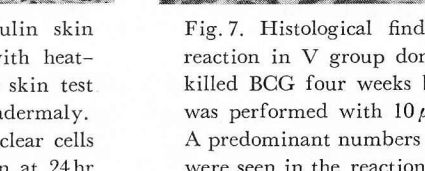
Group		Hour after skin tests			
		5 hr	24 hr	48 hr	
Skin reaction in normal recipients transferred with spleen cells from V group	Degree of cell infiltration in skin lesion				Epidermis Papillary dermis Hypodermis Panniculus adiposus Loose connective tissue Panniculus carnosus
	Mean diameter of skin reaction	7.0 mm	15.0 mm	10.0 mm	
Skin reaction in normal recipients transferred with lymph node cells from V group	Degree of cell infiltration in skin lesion				Epidermis Papillary dermis Hypodermis Panniculus adiposus Loose connective tissue Panniculus carnosus
	Mean diameter of skin reaction	7.8 mm	12.3 mm	7.8 mm	

Fig. 5. Histological findings of tuberculin skin reaction in normal (non-irradiated) recipients transferred with  $1 \times 10^8$  of spleen or lymph node cells from V group intravenously, and skin tests were performed with  $10 \mu\text{g}$  of PPD intradermally 24 hr later. Each schema was represented the summarized findings of three recipients.

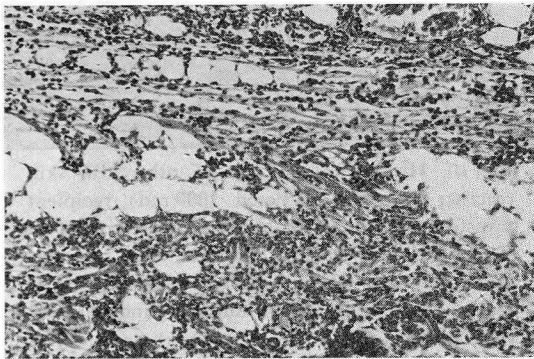


Fig. 6. Histological findings of tuberculin skin reaction in V group donor sensitized with heat-killed BCG four weeks before, and the skin test was performed with  $10 \mu\text{g}$  of PPD intradermally. A large number of infiltrating mononuclear cells and neutrophils were seen in the reaction at 24 hr (diameter,  $20 \times 22 \text{ mm}$ ). H. & E.  $\times 100$ .

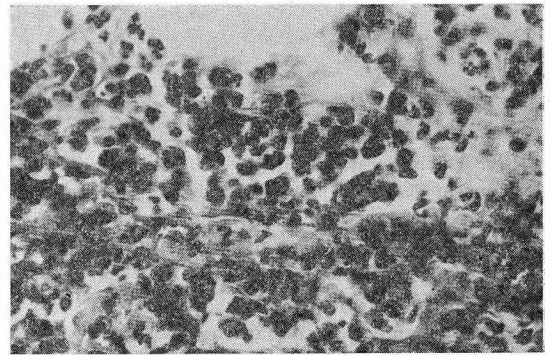


Fig. 7. Histological findings of tuberculin skin reaction in V group donor sensitized with heat-killed BCG four weeks before, and the skin test was performed with  $10 \mu\text{g}$  of PPD intradermally. A predominant number of infiltrating neutrophils were seen in the reaction at 48 hr (diameter,  $19 \times 21 \text{ mm}$ ). H. & E.  $\times 200$ .

様に、脾細胞移入群に比べ所属リンパ節細胞移入群の方がその浸潤程度は軽度であつた。照射 recipient においても正常 recipient と同様に、感作細胞の LIF 活性と好中球の浸潤程度とは相関しなかつた。

単核球の浸潤程度は、正常 recipient で見られたと同様に、MIF 活性の見られなかつた脾細胞移入群および MIF 活性が著明に認められたリンパ節細胞移入群とも同等の単核球浸潤程度であつた。照射 recipient においても正常 recipient と同様に、感作細胞の MIF 活性と単核球の浸潤程度とは相関しなかつた。

以上のごとく感作細胞の MIF あるいは LIF 活性と単核球あるいは好中球の浸潤程度とは相関しなかつたが、照射 recipient における単核球および好中球の浸潤程度は正常 recipient に比べ、総数および密度において著しく減少していた。

#### IV. 考 察

V 群および VC 群における感作細胞について、ツベルクリン感受性伝達活性、MIF 産生能および LIF 産生能の 3 者についての関係を Fig. 12 にまとめた。

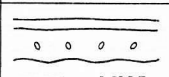
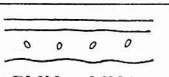
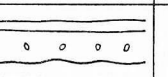
Group		Hour after skin tests			
		5 hr	24 hr	48 hr	
Skin reaction in V group donors	Degree of cell infiltration in skin lesion	 PMN ## MNC #	 PMN # MNC +	 PMN ## MNC + (abscess)	Epidermis Papillary dermis Hypodermis Panniculus adiposus Loose connective tissue Panniculus carnosus
	Mean diameter of skin reaction	17.3 mm	21.8 mm	22.3 mm	

Fig. 8. Histological findings of tuberculin skin reaction in V group donors sensitized with heat-killed BCG four weeks before, and skin tests were performed with 10  $\mu$ g of PPD intradermally. Each schema was represented the summarized findings of three animals.

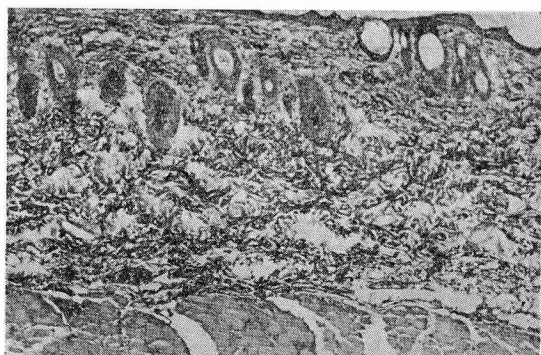


Fig. 9. Histological findings of tuberculin skin reaction in  $^{60}\text{Co}$ -irradiated (800 rad) recipient transferred with  $1 \times 10^8$  of spleen cells from V group intravenously, and the skin test was performed with 10  $\mu$ g of PPD intradermally 24 hr later. A small number of infiltrating mononuclear cells and neutrophils were seen in the reaction at 48 hr (diameter, 12  $\times$  11 mm). H. & E.  $\times$  40.

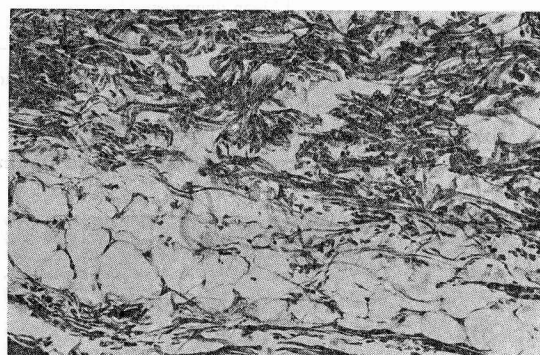


Fig. 10. Histological findings of tuberculin skin reaction in  $^{60}\text{Co}$ -irradiated (800 rad) recipient transferred with  $1 \times 10^8$  of lymph node cells from V group intravenously, and the skin test was performed with 10  $\mu$ g of PPD intradermally 24 hr later. A small number of infiltrating mononuclear cells and neutrophils were seen in the reaction at 24 hr (diameter, 12  $\times$  12 mm). H. & E.  $\times$  100.

V群の所属(鼠径部)リンパ節細胞においてはツベルクリン感受性伝達活性と MIF 活性および LIF 活性はいずれも著明で 3 者相関した。V群の脾細胞においてはツベルクリン感受性伝達活性と LIF 活性は著明で相関したが、MIF 活性は認められなかった。

VC群の所属(鼠径部)リンパ節細胞においてはツベルクリン感受性伝達活性と MIF 活性は中等度に認められ相関したが、いずれもV群のリンパ節細胞に比べると減弱していた。LIF 活性は全く認められなくなり、むしろ白血球遊走促進活性が見られた。VC群の脾細胞においては中等度の MIF 活性が見られるとともに最も著明なツベルクリン感受性伝達活性が認められた。LIF 活性はVC群のリンパ節細胞の場合と同様に、全く認められなくなり、白血球遊走促進活性が見られるようになった。

以上のごとく VC群におけるツベルクリン感受性伝

達細胞、MIF 産生細胞および LIF 産生細胞の分布がV群のそれと明らかに異なるという事実より、感作後チャレンジを行なうことにより、これらの担当細胞の分布が大きく変化したことが推定された。またV群およびVG群におけるツベルクリン感受性伝達細胞、MIF 産生細胞および LIF 産生細胞はそれぞれ異なった独自の分布を有することから、これらの担当細胞は同一の細胞ではない可能性が示された。

遅延型反応のなかで Jones-Mote 型反応においては、一般に感作細胞より MIF 活性が見られないのに対し<sup>40)~42)</sup>、ツベルクリン型反応においては MIF 活性が見られ、皮内反応と相関するとされている<sup>7)10)12)13)</sup>。そして MIF 活性の有無は Jones-Mote 型反応とツベルクリン型反応との本質が異なるという根拠の一つにもなっている。しかし今回の成績より、V群の脾細胞と所属

Group		Hour after skin tests			
		5 hr	24 hr	48 hr	
Skin reaction in irradiated recipients transferred with spleen cells from V group	Degree of cell infiltration in skin lesion	MNC ±	PMN + MNC ±	PMN ± MNC +	Epidermis Papillary dermis Hypodermis Panniculus adiposus Loose connective tissue Panniculus carnosus
	Mean diameter of skin reaction	6.0 mm	16.0 mm	12.3 mm	
Skin reaction in irradiated recipients transferred with lymph node cells from V group	Degree of cell infiltration in skin lesion	MNC ±	MNC +	MNC +	Epidermis Papillary dermis Hypodermis Panniculus adiposus Loose connective tissue Panniculus carnosus
	Mean diameter of skin reaction	7.5 mm	14.8 mm	10.0 mm	

Fig. 11. Histological findings of tuberculin skin reaction in <sup>60</sup>Co-irradiated (800 rad) recipients transferred with 1 × 10<sup>8</sup> of spleen or lymph node cells from V group intravenously, and skin tests were performed with 10 μg of PPD intradermally 24 hr later. Each schema was represented the summarized findings of three recipients.

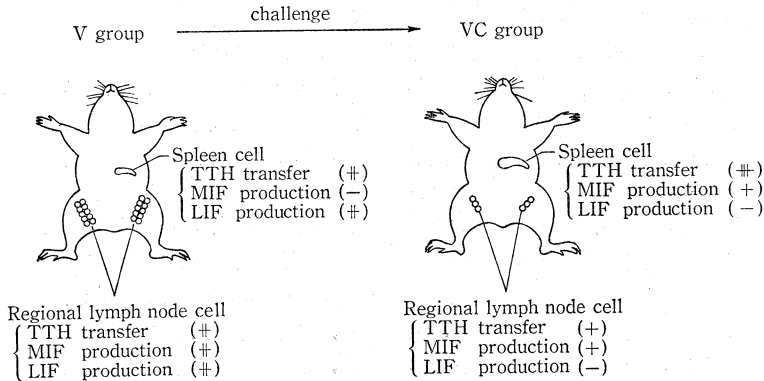


Fig. 12. The relation between the transfer ability of tuberculin type hypersensitivity (TTH), and the ability of MIF or LIF production in spleen cells or regional lymph node cells from V and VC group.

リンパ節細胞において見られたように、ツベルクリン感受性伝達活性が同等であるにもかかわらず、MIF 活性に差が見られること、さらに VC 群の脾細胞と所属リンパ節細胞において見られたように、MIF 活性が同程度である場合においてもツベルクリン感受性伝達活性に強弱の差が見られたことより、ツベルクリン型反応においても必ずしも MIF 活性を持つとは限らない感作細胞によつて皮内反応が発現される可能性が示された。Salvin<sup>20)</sup>はツベルクリン感受性伝達活性のない細胞群からも MIF 活性を認め、伝達活性を持つ細胞群からはすべて MIF 活性を認めている。今回著者は逆の不一致の場合、すなわちツベルクリン伝達活性を持ち MIF 活性

を持たない感作細胞の存在を確認した。

LIF 活性は皮内反応と相関するという報告<sup>9)11)</sup>、相関しないという報告<sup>28)29)</sup>、あるいは何回か検査すれば皮内反応と相関する比率が高まるという報告<sup>43)</sup>などいろいろ見られるが、一般には LIF 活性と皮内反応とは相関するという見解がとられている<sup>17)18)</sup>。今回の実験結果より、V 群の脾細胞あるいは所属リンパ節細胞において見られたように、ツベルクリン感受性伝達活性と LIF 活性がよく相関する場合もあつたが、VC 群の脾細胞あるいは所属リンパ節細胞において見られたように、ツベルクリン感受性伝達活性と LIF 活性が相関しない場合も認められた。白血球遊走促進因子については LIF とは異なつ



た物質であることはすでに松井<sup>39)</sup>により確認され、後日報告する予定であるが、白血球に対する遊走阻止および促進の両因子を共に *in vitro* における遅延型反応の指標とした場合は、皮内反応と相関し有用であることが示された。遊走阻止か促進かのどちらの因子が発現されるかは抗原の投与経路あるいは投与後の時期により変化すると考えられた。LIF はまた遅延型反応において MIF とも相関すると報告されているが<sup>18)44)</sup>、また LIF は MIF とは異なる物質であることがすでに確認されているので<sup>15)45)</sup>、今回のツベルクリン感受性伝達細胞、MIF 産生細胞および LIF 産生細胞が別個の集団である可能性を示した著者の成績は今まで不明瞭であつたこれら 3 者の関係を明瞭にした点で価値あるものと考えている。

遅延型皮内反応発現のため、感作細胞よりマクロファージに対する因子として MIF が考えられている<sup>19)</sup>、今回皮内反応部位の浸潤細胞に対する MIF あるいは LIF の作用を解析する目的で、ツベルクリン感受性伝達活性および LIF 活性が著明で、MIF 活性が異なる V 群の脾細胞と所属リンパ節細胞を移入した recipient について、皮内反応部位を病理組織学的に検討した。その結果ツベルクリン皮内反応部位における単核球の浸潤程度は *in vitro* における感作細胞より産生される MIF の活性とは必ずしも平行しないこと、また好中球の浸潤程度は感作細胞より産生される LIF の活性以外に他の因子の関与も考えられることの 2 点を示された。このように皮内反応部位の浸潤細胞の種類と皮内反応の大きさは一致しないことより、次に non-specific accessory cell のプールをできるだけ減少させたコバルト照射 recipient を用いて、ツベルクリン感受性の受身伝達機構の解明を行なつた。

Coe<sup>32)</sup> は遅延型皮内反応の受身伝達実験において、照射動物に対しては皮内反応が伝達できなかつたことを、ウサギの  $\gamma$ -globulin で感作したラットの胸管リンパ球を用いた移入実験で報告した。Collins<sup>33)</sup> は BCG で感作したマウスの脾細胞を用いた実験で、遅延型反応を照射動物へ伝達できなかつたことを報告した。以上一般に照射動物においては、皮内反応発現のためには感作細胞以外に radiosensitive な骨髄細胞<sup>46)</sup>が必要であるという見解がとられた<sup>34)35)</sup>。骨髄細胞のかわりにリンパ節細胞もその機能を持つという報告もあるが<sup>34)</sup>、他方致死量の照射を受けた recipient に対し、骨髄細胞の reconstitution なしに遅延型反応を伝達できたという報告も決して少なくない<sup>36)~38)</sup>。以上のごとく遅延型皮内反応における non-specific accessory cell の意義づけに関してなお不明の部分が残つていた。今回骨髄細胞の reconstitution なしに、V 群の感作脾細胞あるいは所属リンパ節細胞の移入により、皮内反応はコバルト (800 rad) 照射 recipient へ伝達できた。またコバルト照射 recipient の皮内反応

は正常 (非照射) recipient の反応よりも著明であつた (Table 1)。Asherson<sup>47)</sup> は遅延型反応の一つである接触アレルギーにおいて、照射 recipient の皮内反応が非照射 recipient に比し著明でかつ大であると報告している。今回ツベルクリン型遅延型反応において放射線照射による皮内反応の増大が示された。放射線照射による抗体産生能の増大に関する報告は多く見られる<sup>48)~50)</sup>、また細胞性免疫の一つである Experimental allergic encephalomyelitis に関しても、recipient に対する放射線照射は症状を増大させると報告されている<sup>51)</sup>。それぞれの要因は異なるかもしれないが、recipient に対する放射線照射は移入された感作細胞の活性を増大させると理解できた。

コバルト照射 recipient のツベルクリン皮内反応部位を病理組織学的に検討したところ、その皮内反応の大きさが正常 (非照射) recipient に比べより大きな反応が見られる場合でも、照射 recipient の皮内反応部位における浸潤細胞密度は、正常 recipient に比べ、約 1/2 程度に減少していた。すなわちツベルクリン皮内反応の大きさは浸潤細胞数あるいはその密度によつて決定されるのではないこと、non-specific accessory cell の種類およびその数は本質的には皮内反応の大きさとは無関係であることが示された。

遅延型反応の受身伝達実験において recipient の皮内反応部位に浸潤する donor 由来の細胞は全浸潤細胞の数パーセント以下であると報告されている<sup>52)~55)</sup>。また recipient の皮内反応部位における donor 由来の細胞数と皮内反応の大きさは比例しないことも報告されている<sup>52)54)55)</sup>。著者の実験結果においては、正常あるいは照射 recipient を用いた受身伝達実験の dose response より、皮内反応の大きさは移入された細胞数に比例すること、さらに皮内反応部位に浸潤する全細胞数は皮内反応の大きさには影響を与えないことを考慮すると、遅延型皮内反応の大きさは皮内反応部位に到達した感作細胞の絶対数によつて決定されることが示唆された。

コバルト照射 recipient における皮内反応部位の浸潤細胞組成に対する感作細胞の MIF 活性あるいは LIF 活性の影響に関しては、正常 (非照射) recipient の組織において見られた結果とほぼ同様で、単核球の浸潤程度と感作細胞の MIF 活性、あるいは好中球の浸潤程度と感作細胞の LIF 活性は双方とも相関しなかつた。

遅延型皮内反応部位における浸潤細胞の組成に関しては、これまでの病理組織学的な報告によれば動物の種、系および年齢等により大きく異なつた結果が示されている<sup>56)~62)</sup>。遅延型皮内反応の大きさが皮内反応部位に到達した感作細胞の絶対数によつて決定され、皮内反応部位に浸潤する non-specific accessory cell に属する単核球あるいは好中球の浸潤総数あるいは浸潤割合は皮内反

応の大きさには影響を与えず、個体が動員可能な単核球数あるいは好中球数に強く影響されて皮内反応部位に対する配分が決定され、種々の遅延型反応の組織像が完成されると推論できた著者の実験結果は、これまでの報告の問題点に対して解釈を可能にするように思われた。

## V. 結 語

1. ツベルクリン感受性伝達活性(以下 Td 活性と略す)は BCG 死菌による局所感作(V群)の場合、脾細胞と所属(鼠径部)リンパ節細胞において同等の活性で認められた。

V群における感作細胞の MIF 活性は所属リンパ節細胞から認められたが、脾細胞からは認められなかった。一方 LIF 活性は所属リンパ節および脾細胞の双方から同等の活性で認められた。

2. BCG 死菌による局所感作成立後、4週目に BCG 死菌の静注を行なった VC 群の場合、Td 活性は所属リンパ節細胞にて減弱し、脾細胞にて増大した。VC 群の MIF 活性は所属リンパ節で減弱し、脾細胞から新たに認められるようになった。一方 LIF 活性は所属リンパ節および脾細胞から共に認められなくなり、かわりに双方から白血球遊走促進活性が認められるようになった。

3. 以上の結果より Td 活性と MIF 活性は必ずしも相関するとは限らず、ツベルクリン遅延型反応において MIF 活性が *in vitro* で検出できない感作細胞が存在することが認められた。ツベルクリン遅延型反応において白血球遊走阻止および促進の両因子を共に *in vitro* の指標とした場合、これらは Td 活性と相関し *in vitro* の指標として有用であることが認められた。

4. ツベルクリン皮内反応において、反応部位に浸潤する単核球あるいは好中球の浸潤程度は、*in vitro* における感作細胞の MIF 活性あるいは LIF 活性とは相関しないことが示された。

5. コバルト照射 recipient に対するツベルクリン感受性の受身伝達は正常(非照射) recipient に対するよりも、より強く伝達され皮内反応の増大が認められた。

6. コバルト照射 recipient のツベルクリン皮内反応部位の浸潤細胞は、正常(非照射) recipient に比べ、著しく減少しその密度は1/2程度であつた。照射 recipient の皮内反応が正常(非照射) recipient に比べ著明であつたことより、皮内反応の肉眼的な大きさと病理組織学的な浸潤細胞の程度とは比例しないこと、すなわち遅延型皮内反応の大きさは単に反応部位へ浸潤した細胞総数によつて決定されるのではないことが示された。

## 謝 辞

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜りました大島駿作教授に厚くお礼申し上げます。また研究面で、終

始、御協力をいただいた小原幸信博士、木野稔也博士、松井祐佐公博士に深く感謝いたします。実験遂行のうえで御協力をいただいた今井保代氏、谷岡文子氏、阪口三重子氏に感謝いたします。

## 文 献

- 1) Lubaroff, D.M. and Waksman, B.H.: Bone marrow as source of cells in reactions of cellular hypersensitivity II. Identification of allogeneic or hybrid cells by immunofluorescence in passively transferred tuberculin reactions, *J Exp Med*, 128: 1473, 1968.
- 2) Bail, O.: Uebertragung der Tuberkulinempfindlichkeit, *Zeitschr f Immunitätsforschung Orig*, 4: 470, 1910.
- 3) Chase, M.W.: The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin, *Proc Soc Exp Biol Med*, 59: 134, 1945.
- 4) Rich, A.R. and Lewis, M.R.: The nature of allergy in tuberculosis as revealed by tissue culture studies, *Bull Johns Hopkins Hosp*, 50: 115, 1932.
- 5) Waksman, B.H. and Matoltsy, M.: The effect of tuberculin on peritoneal exudate cells of sensitized guinea pigs in surviving cell culture, *J Immunol*, 81: 220, 1958.
- 6) Švejar, J. and Johanovský, J.: Demonstration of delayed (tuberculin) type hypersensitivity *in vitro* II. Specific reaction of hypersensitive cells with antigen, *Z Immunforsch*, 122: 420, 1961.
- 7) George, M. and Vaughan, J.H.: *In vitro* cell migration as a model for delayed hypersensitivity, *Proc Soc Exp Biol Med*, 111: 514, 1962.
- 8) Soborg, M. and Bendizen, G.: Human lymphocyte migration as a parameter of hypersensitivity, *Acta Med Scand*, 181: 247, 1967.
- 9) Soborg, M.: *In vitro* detection of cellular hypersensitivity in man, specific migration inhibition of white blood cells from brucella-positive persons, *Acta Med Scand*, 182: 167, 1967.
- 10) David, J.R. et al.: Delayed hypersensitivity *in vitro* I. The specificity of inhibition of cell migration by antigens, *J Immunol*, 93: 264, 1964.
- 11) Mookerjee, B. et al.: Delayed hypersensitivity *in vitro* using human peripheral leucocytes, *Transplantation*, 8: 745, 1969.
- 12) David, J.R.: Delayed hypersensitivity *in vitro*: its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen interaction, *Proc Natl Acad Sci US*, 56: 72, 1966.
- 13) Bloom, B.R. and Bennet, B.: Mechanism of a reaction *in vitro* associated with delayed-type hypersensitivity, *Science*, 153: 80, 1966.
- 14) Clausen, J.E.: Migration inhibitory effect on cell-free supernatants from tuberculin-stimulated cultures of human mononuclear leukocytes demonstrated by two-step MIF agarose assay, *J Immunol*, 110: 546, 1973.

- 15) Rocklin, R. E.: Products of activated lymphocytes: leukocyte inhibitory factor (LIF) distinct from migration inhibitory factor (MIF), *J Immunol*, 112 : 1461, 1974.
- 16) Bloom, B. R.: *In vitro* approaches to the mechanism of cell-mediated immune reactions, *Advan Immunol*, 13 : 101, 1971.
- 17) Vlaovic, M. S. et al.: Capillary tube leukocyte migration inhibition as a correlate of cell-mediated immunity in the chicken, *Cell Immunol*, 17 : 335, 1975.
- 18) Hoffman, P. M. et al.: Leukocyte-migration inhibition in guinea pigs I. Correlation with skin test reactivity and Macrophage-migration inhibition, *Cell Immunol*, 21 : 358, 1976.
- 19) Bennett, B. and Bloom, B. R.: Reactions *in vivo* and *in vitro* produced by a soluble substance associated with delayed-type hypersensitivity, *Proc Nat Acad Sci USA*, 59: 756, 1968.
- 20) Salvin, S. B. et al.: Lymphoid cells in delayed hypersensitivity I. *In vitro* vs. *in vivo* responses, *Cell Immunol*, 1 : 62, 1970.
- 21) Yamamoto, K. et al.: Macrophage migration inhibition studies with cells from mice vaccinated with cell walls of *Mycobacterium bovis* BCG: relationship between inhibitory activity of lung cells and resistance to airborne challenge with *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv, *Infect Immun*, 1 : 595, 1970.
- 22) Kino, T. and Tsuji, S.: Two depositories of immunocompetent cells for delayed hypersensitivity: the lung and the peritoneal cavity, *Amer Rev Resp Dis*, 105 : 832, 1972.
- 23) Pelly, R. and Schwartz, H. J.: The production of migration inhibitory factor by non-immune guinea pig lymphoid cells incubated with concanavalin A, *Proc Soc Exp Biol (NY)*, 141 : 373, 1972.
- 24) Lamelin, J. P. and Vassalli, P.: Inhibition of macrophage migration by a soluble factor from lymphocytes stimulated with PHA or ALS, *Nature* 229 : 426, 1971.
- 25) Papageorgiou, P. S. et al.: Production and characterization of migration inhibitory factor(s) (MIF) of established lymphoid and non-lymphoid cell lines, *J Immunol*, 108 : 494, 1972.
- 26) Lommitzer, R. et al.: Production of leukocyte inhibitory factor (LIF) and macrophage inhibitory factor (MIF) by PHA-stimulated lymphocytes, *Clin Exp Immunol*, 22 : 522, 1975.
- 27) Tubergen, D. G. et al.: Production of macrophage migration inhibition factor by continuous cell lines, *J Exp Med*, 135 : 255, 1972.
- 28) Kaltreider, H. B. et al.: Capillary tube migration for detection of human delayed hypersensitivity: difficulties encountered with "Buffy coat" cells and tuberculin antigen, *J Immunol*, 103: 179, 1969.
- 29) Lockshin, M. D.: Failure to demonstrate leukocyte migration inhibition in human tuberculin hypersensitivity, *Proc Soc Exp Biol Med*, 132 : 928, 1969.
- 30) Rocklin, R. E.: Partial characterization of leukocyte inhibitory factor by Concanavalin A-stimulated human lymphocytes (LIF Con A), *J Immunol*, 114 : 1161, 1975.
- 31) Rocklin, R. E. and Rosenthal, A. S.: Evidence that human leukocyte inhibitory factor (LIF) is an esterase, *J Immunol*, 119 : 249, 1977.
- 32) Coe, J. E. et al.: Immunologic competence of thoracic duct cells I. Delayed hypersensitivity, *J Exp Med*, 123 : 267, 1966.
- 33) Collins, F. M. and Mackaness, G. B.: The relationship of delayed hypersensitivity to acquired antituberculous immunity I. Tuberculin sensitivity and resistance to reinfection in BCG-vaccinated mice, *Cell Immunol*, 1 : 253, 1970.
- 34) Lubaroff, D. M. and Waksman, B. H.: Bone marrow as a source of cells in reactions of cellular hypersensitivity I. Passive transfer of tuberculin sensitivity in syngeneic systems, *J Exp Med*, 128 : 1425, 1968.
- 35) Tubergen, D. G. and Feldman, J. D.: The role of thymus and bone marrow cells in delayed hypersensitivity, *J Exp Med*, 134 : 1144, 1971.
- 36) Youdim, S. et al.: Studies of delayed hypersensitivity to *L. monocytogenes* in mice: nature of cells involved in passive transfers, *Cell Immunol*, 6 : 98, 1973.
- 37) Youdim, S. et al.: Thymus dependency of cells involved in transfer of delayed hypersensitivity to *Listeria monocytogenes* in mice, *Cell Immunol*, 8 : 395, 1973.
- 38) Zembala, M.: Depression of the T cell phenomenon of contact sensitivity by T cells from unresponsive mice, *Nature*, 244 : 227, 1973.
- 39) 松井祐佐公: ツベルクリンアレルギーに関する実験的研究—白血球阻止因子(LIF)とマクロファージ遊走阻止因子(MIF)の免疫学的意義について, *結核*, 54 : 331, 1979.
- 40) Bast, R. C. et al.: Heterogeneity of the cellular immune response II. The role of adjuvant. Lymphocyte stimulation in cutaneous basophil hypersensitivity, *J Exp Med*, 133 : 202, 1971.
- 41) Katz, S. I. et al.: Mechanisms involved in the expression of Jones-Mote Hypersensitivity II. Lymph node morphology and *in vitro* correlates, *Cell Immunol*, 16 : 404, 1975.
- 42) Ohmichi, Y. et al.: Relationships among differentiated T-cell subpopulations I. Dissociated development of tuberculin type hypersensitivity, Jones-mote type hypersensitivity and activation of helper function, *Immunology*, 31 : 101, 1976.
- 43) Ramsey, E. W. et al.: An evaluation of the peripheral leukocyte migration inhibition test as a correlate of delayed cutaneous hypersensitivity, *Cell Immunol*, 23 : 334, 1976.
- 44) Sabioncello, A. et al.: A comparison of peritoneal exudate cells and peripheral blood leukocytes in direct and indirect migration inhibition tests as



- in vitro* assay for tuberculin hypersensitivity in guinea pigs, Cell Immunol, 22 : 375, 1976.
- 45) Hoffman, P.M. et al.: Leukocyte migration in guinea pigs II. Partial characterization of a leukocyte migration inhibitory factor distinct from macrophage migration inhibitory factor, Cell Immunol, 30 : 92, 1977.
  - 46) Mackness, G.B.: The influence of immunologically committed lymphoid cells on macrophage activity *in vivo*, J Exp Med, 129 : 973, 1969.
  - 47) Asherson, G.L. and Zembala, M.: Contact sensitivity in the mouse IV. The role of lymphocytes and macrophages in passive transfer and the mechanism of their interaction, J Exp Med, 132 : 1, 1970.
  - 48) Harris, T.N. et al.: Studies on the transfer of lymph node cells IV. Effects of X-irradiation of recipient rabbits on the appearance of antibody after cell transfer, J Exp Med, 100 : 289, 1954.
  - 49) Celada, F.: Quantitative studies of the adoptive immunological memory in mice I. An age-dependent barrier to syngeneic transplantation, J Exp Med, 124 : 1, 1966.
  - 50) Bell, E.B. and Shand, F.L.: Changes in lymphocyte recirculation and liberation of the adoptive memory response from cellular regulation in irradiated recipients, Eur J Immunol, 5 : 1, 1975.
  - 51) Paterson, P.Y. et al.: Cellular transfer of experimental allergic encephalomyelitis: altered disease pattern in irradiated recipient Lewis rats, Cell Immunol, 16 : 48, 1975.
  - 52) Turk, J.L.: The passive transfer of delayed hypersensitivity in guinea pigs by the transfusion of isotopically-labelled lymphoid cells, Immunology, 5 : 478, 1962.
  - 53) Feldman, J.D. and Najarian, J.S.: Dynamics and quantitative analysis of passively transferred tuberculin hypersensitivity, J Immunol, 91 : 306, 1963.
  - 54) Kay, K. and Rieke, W.O.: Tuberculin hypersensitivity: studies with radioactive antigen and mononuclear cells, Science, 139 : 487, 1963.
  - 55) McCluskey, R. T. et al.: Studies on the specificity of the cellular infiltrate in delayed hypersensitivity reactions, J Immunol, 90 : 466, 1963.
  - 56) Dienes, L. and Mallory, T.B.: Histological studies of hypersensitive reactions, Amer J Pathol, 8 : 689, 1932.
  - 57) Gell, P. G. H. and Hinde, I. T.: The histology of the tuberculin reaction and its modification by cortisone, Brit J Exp Path, 32 : 516, 1951.
  - 58) Boughton, B. and Spector, W.G.: Histology of the tuberculin reaction in guinea pigs, J Path Bact, 85 : 371, 1963.
  - 59) Wiener, J. et al.: A cellular study of tuberculin sensitivity, Amer J Pathol, 47 : 723, 1965.
  - 60) Martins, A.B. and Raffel, S.: Cellular activities in hypersensitive reactions, I. Comparative cytology of delayed, "Jones-Mote" and arthus reactions, J Immunol, 93 : 937, 1964.
  - 61) Turk, J.L. et al.: A histochemical analysis of mononuclear cell infiltrates of the skin II. Delayed hypersensitivity in the human, Int Arch Allergy, 30 : 248, 1966.
  - 62) Turk, J.L. et al.: A histochemical analysis of mononuclear cell infiltrates of the skin with particular reference to delayed hypersensitivity in the guinea pig, Int Arch Allergy, 29 : 278, 1966.