

臍帯血T細胞の成人B細胞分化抑制能-1-臍帯血T細胞 subsets($T\gamma$, $T_{non-\gamma}$ 細胞)の成人免疫グロブリン産生細胞数に及ぼす影響

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8837

臍帯血T細胞の成人B細胞分化抑制能

〔I〕 臍帯血T細胞 subsets ($T\gamma$, $T_{non-\gamma}$ 細胞) の成人免疫グロブリン産生細胞数に及ぼす影響

金沢大学医学部小児科学教室 (主任: 谷口 昂教授)

森 谷 直 樹

(昭和55年5月10日受付)

〔I〕 本論文の要旨は、第7回日本臨床免疫学会総会(1979, 札幌)において発表した。

ヒトB細胞は種々の抗原刺激により最終的に免疫グロブリン(Ig)産生細胞に分化し、各クラスのIgを分泌する。In vitroでのB細胞分化の解析の多くは、pokeweed mitogen (PWM)を用いた多クローン性のB細胞分化をモデルとして行われてきた¹⁾²⁾。PWMによるB細胞分化にはT細胞の存在が必須であり³⁾⁴⁾、その調節機構も明らかにされつつある。Morettaら⁵⁾は、成人末梢血T細胞が2種類のIgのFc部分に対するレセプターを持つことを報告し、T細胞の約70%がIgMのFc部分に対するレセプターを有し($T\mu$ 細胞)、PWMによるB細胞分化に helperとして働くが、T細胞の約10%はIgGのFc部分に対するレセプターを持ち($T\gamma$ 細胞)、IgG免疫複合体と結合した後、PWMによるB細胞分化に suppressorとして働くことを示した。

臍帯血リンパ球はPWMを加えて培養してもB細胞のIg産生細胞への分化がほとんどみられないことより、B細胞又はT細胞の未熟性が示唆されていた。最近Haywardら⁶⁾は、臍帯血リンパ球をB細胞とT細胞に分画し、このT細胞が成人B細胞のPWM刺激による分化に抑制的に働くことを報告した。さらにOldstoneら⁷⁾は、臍帯血T細胞に $T\gamma$ 細胞の占める比率が成人より高いことから、臍帯血T細胞のB細胞分化抑制能はMorettaら⁵⁾が報告したように $T\gamma$ 細胞によって発揮されるのだろうと推定した。しかしMiyawakiら⁸⁾は臍帯血T細胞にみられる成人B細胞

分化抑制能が生後1才頃まで認められるのに対し、 $T\gamma$ 細胞の比率は生後3ヶ月ですでに成人レベルに低下し抑制能とはかならずしも平行しないことを示した。ここでは、臍帯血T細胞をIgGFcレセプターを持つ $T\gamma$ 細胞と、持たない $T_{non-\gamma}$ 細胞に分画し、成人末梢血リンパ球(PBL)と混合培養することにより、PWMによる成人B細胞分化がどのような影響を受けるかを検討した。

対象及び方法

I. 研究対象

5例の健康新生児の胎盤側臍帯から、胎盤が剥離する前にヘパリン(10u/ml)を加えて臍帯血を無菌的に採取した。成人静脈血は20才から30才の5人の健康な男性からヘパリンを加えて採血した。

2. 未分画リンパ球の分離

臍帯血、成人末梢血ともに5%デキストラン(Dextran T500, Pharmacia Fine Chemicals, Sweden)加磷酸緩衝食水(PBS)を20%に加え、37℃で30~40分静置し赤血球を沈降させた。その上清をFicoll-Isopaque(Lymphoprep, Nyegaard & Co., Oslo, Norway)に静かに重層し、400×g 30分間4℃で遠心した⁹⁾。中間層に得られたリンパ球をPBSで3回洗浄し、RPMI 1640培養液(Grand Island Biological Co., Grand Island, N. Y.)に $1 \times 10^7/ml$ の濃度で再浮遊した。細胞の生存率はトリパンブルー

Suppressor activity of cord blood T lymphocytes on adult B cell differentiation in the pokeweed mitogen system. [I] Effect of cord T cell subsets ($T\gamma$, $T_{non-\gamma}$ cells) on the generation of immunoglobulin-producing cells in the culture of adult peripheral blood lymphocytes. Naoki Moriya, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920, Japan

色素排泄試験で判定したところ、98%以上であった。

3. T細胞の分離

1容の末分画リンパ球 ($1 \times 10^7/ml$) に、ノイラミニダーゼ (10 u/ml, Behringwerke AG, Marburg, West Germany) で 37°C 30分処理¹⁰⁾した羊赤血球 (SRBC, $2 \times 10^8/ml$ in PBS) と SRBC で吸収した不活化胎児牛血清 (FCS, GIBCO) を各々1容加え、 $200 \times g$, 5分間遠心し、さらに60分間室温に静置した。その後 pellet を静かに再浮遊し、Ficoll-Isopaque に重層して $400 \times g$, 20分間遠心した。SRBC の付着した T細胞は比重遠心により pellet に回収される。SRBC は 0.01M Tris - 0.84% NH_4Cl 溶液にて溶血させ直ちに PBS を加えて洗浄し、T細胞に富む population を得た。

4. T細胞 subsets の分画

T細胞 subsets の分画は Moretta ら⁹⁾の方法に準じて行った¹¹⁾。雄牛赤血球を PBS で3回洗浄し、 $1 \times 10^9/ml$ に PBS で調製した。これに等量の家兎抗雄牛赤血球抗体の IgG 分画 (100倍希釈) を加え、 37°C 、30分間 incubate して感作赤血球 (EA (IgG)) を作製した。PBS で3回洗浄し、10% FCS 加 PBS で $5 \times 10^8/ml$ に調製したものに等量の T細胞 ($1 \times 10^7/ml$) を混合し、 $200 \times g$, 5分遠心して 4°C 30分間静置した。Pellet を再浮遊させ、Ficoll-Isopaque 比重遠心 ($400 \times g$, 20分) にて分離した。Pellet に EA (IgG) の結合した T細胞 (T γ 細胞) に富む population が、中間層に EA (IgG) と結合しない T細胞 (Tnon- γ 細胞) が得られる。EA は 0.01M Tris - 0.84% NH_4Cl 溶液で溶血させた。

5. リンパ球表面マーカーの検定

末分画 T細胞、T γ 細胞、Tnon- γ 細胞の表面マーカーを検定した。SRBC を用いた E ロゼット形成細胞 (E-RFC) の検定は、前述のごとくノイラミニダーゼ処理した SRBC とリンパ球を 20:1 に混合し、SRBC で吸収した FCS を加えて $200 \times g$, 5分遠心し、60分間室温に静置した。再浮遊後スライドグラスに1滴載せ、顕微鏡下でリンパ球 200個を数え3ヶ以上 SRBC の付着したものを E-RFC として比率を求めた¹²⁾。表面 Ig 保有細胞は¹³⁾、fluorescein-isothiocyanate (FITC) 結合抗ヒト Ig 山羊抗体 ($\times 5$, polyvalent, Behringwerke) を $1 \times 10^7/ml$ のリンパ球と等量加え、sodium azide を含む PBS (PBSA) とともに 37°C 、30分間 incubate し、PBSA で3回洗浄後適当な濃度に浮遊した。この1滴をスライドグラスに載せ、蛍光顕微鏡 (Olympus) 下でリンパ球 200個を数え、細胞表面に点状の蛍光を有するリンパ球を陽性として比率

を求めた。IgGFc レセプターは前述のごとく EA (IgG) を用いて、リンパ球 200個のうち3ヶ以上 EA を付着した細胞を陽性として比率を求めた。単球は peroxidase 染色と細胞形態より比率を求めた。

6. リンパ球の培養条件

0.3 mg/ml の L - glutamine, 200 units/ml の penicillin, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の gentamicin, 20% の不活化 FCS を含む RPMI1640 培養液にリンパ球を $1 \times 10^6/ml$ の濃度で浮遊し、培養チューブ (13×100 mm, Falcon) に1ml入れ、PWM を加えて7日間5% CO_2 培養器内で培養した。PWM (GIBCO) の最適量を決定するために、成人末分画リンパ球 (PBL) に種々量の PWM を加え7日間培養し、Ig 産生細胞を比較した。また培養期間の最適日数も同時に検討した。

7. 細胞内免疫グロブリンの染色

7日間培養後チューブ当りの回収細胞数を算定し、PBS で2回洗浄して適当な濃度に再浮遊したものを1滴スライドグラスに載せ十分に風乾した。次に5% 酢酸加エタノールで -20°C 、20分間固定し、PBS で十分に洗浄した。これに FITC - 抗ヒト Ig 山羊抗体 ($\times 20$, polyvalent) を載せ、湿室、室温で30分間染色した¹⁴⁾。PBS で十分に洗浄し、蛍光顕微鏡下でリンパ球 1,000個を数え、細胞質に明らかな蛍光を持つリンパ球を陽性として比率を求めた。回収細胞数を乗じてチューブ当りの Ig 産生細胞数が得られる。

8. T細胞の成人B細胞分化抑制能

$1 \times 10^6/ml$ の成人 PBL 0.5 cc に、臍帯血又は成人 T細胞の種々量 (2.5, 5.0, 10.0 $\times 10^5$ 細胞) を加え PWM とともに7日間培養した。又、T γ 細胞、Tnon- γ 細胞の抑制能をみるために、成人 PBL ($1 \times 10^6/ml$) 0.5 cc に $1 \times 10^6/ml$ の T細胞 subsets を 0.5 cc 加え全量 1ml とし、PWM を加えて7日間培養した。培養後、前述のごとく Ig 産生細胞を算定し、T細胞を加えない成人 PBL の Ig 産生細胞数をコントロールとして比較した。結果は % change として以下の式より求めた。

$$\% \text{ Change} = \left(\frac{\text{混合培養 Ig 産生細胞数}}{\text{コントロール Ig 産生細胞数}} - 1 \right) \times 100$$

9. リンパ球の放射線照射, mitomycin 処理

$1 \times 10^6/ml$ 濃度にした臍帯血 T細胞又は T細胞 subsets に⁶⁰CO の γ 線を用いて 2,000 rads 照射した。mitomycin 処理は、mitomycin C (協和発酵工業) を 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で臍帯血 T細胞に加え、 37°C 30分間 incubate した後 PBS で3回洗浄し、 $1 \times 10^6/ml$ に

RPMI1640 培養液で再浮遊して用いた。リンパ球の生存率はトリパンブルー染色にて、放射線照射、mitomycin 処理とも 98% 以上であった。

成 績

1. PWM の至適濃度及び至適培養日数

図 1 に示したごとく、成人 PBL の Ig 産生細胞数は PWM $5\mu\text{l/ml}$ の濃度で最も多くなった。又、培養日数は 7 日目で Ig 産生細胞数がピークとなった (図 2)。以下の実験はすべてこの条件下で行った。

2. T 細胞 subsets の表面マーカー

臍帯血、成人末梢血から得た T 細胞、 $T\gamma$ 細胞、 $T_{\text{non-}\gamma}$ 細胞の表面マーカーは表 1 のようであった。T 細胞の純度は、成人で 93.3%、臍帯血で 81.3% と臍帯血でやや低値を示した。EA (IgG) ロゼット形成細胞は、成人 T 細胞で 9.6% であるが、臍帯血 T 細胞では 25.1% と約 3 倍多く、Oldstone ら⁷⁾ の報告とほぼ一致した。 $T\gamma$ 細胞での E-RFC の比率は、臍帯血、成人末梢血ともに未分画 T 細胞のそれよりやや低値を示し、特に臍帯血で単球、表面 Ig 保有細胞の混入が多くなる傾向にあった。しかし $T_{\text{non-}\gamma}$ 細胞では、成人末梢血、臍帯血共に E-RFC の比率は高く (96.0%、84.0%)、EA (IgG) ロゼット形成細胞、表面 Ig 保

有細胞の混入は共に 0.5% 以下であった。

3. 臍帯血未分画 T 細胞の成人 B 細胞分化抑制能
臍帯血 T 細胞の種々量を成人 PBL に加え、PWM とともに混合培養すると (表 2)、臍帯血 T 細胞は dose-dependent に成人 B 細胞の分化を抑制し、成人 PBL の倍量を加えると -96.6% とほぼ完全な抑制がみられた。一方成人 T 細胞を倍量加えても、allogeneic な成人 B 細胞の分化は抑制されなかった。

4. 臍帯血 T 細胞 subsets の成人 B 細胞分化抑制能

臍帯血 T 細胞を EA (IgG) ロゼット法により $T\gamma$ 細胞と $T_{\text{non-}\gamma}$ 細胞に分画し、それぞれを成人 PBL に等量加えて PWM とともに混合培養した。表 3 に結果を示したが、臍帯血 $T\gamma$ 細胞は EA (IgG) を用いて分画したにもかかわらず、成人 B 細胞の分化にはほとんど抑制効果を示さなかった ($+20.5 \pm 13.5\%$)。ところが $T_{\text{non-}\gamma}$ 細胞は未分画 T 細胞とほぼ同程度の強い抑制効果 ($-60.4 \pm 6.8\%$) を示した。 $T\gamma$ 細胞と $T_{\text{non-}\gamma}$ 細胞を臍帯血未分画 T 細胞での比率とほぼ等しい 3:7 の比率で混合して成人 PBL に加えても、未分画 T 細胞と同程度の抑制効果が得られた。一方成人末梢血の $T\gamma$ 細胞は、他の成人 B 細胞の分化に抑制的に (-45.7%) 作用するが、 $T_{\text{non-}\gamma}$ 細胞は全く抑

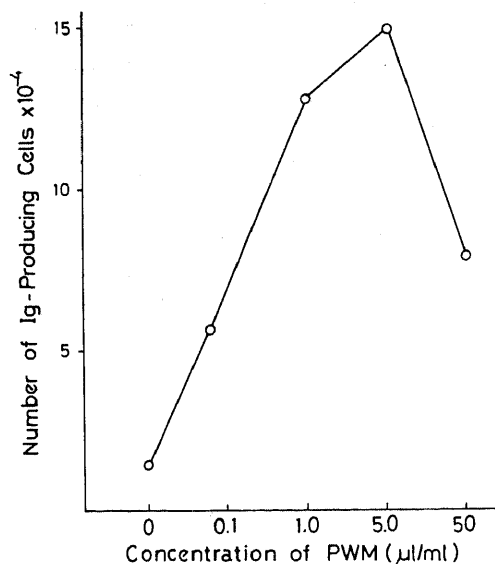


Fig. 1. Dose effect of pokeweed mitogen on adult B cell differentiation into Ig-producing cells in the 7-day culture of adult peripheral blood lymphocytes (1×10^6 cells).

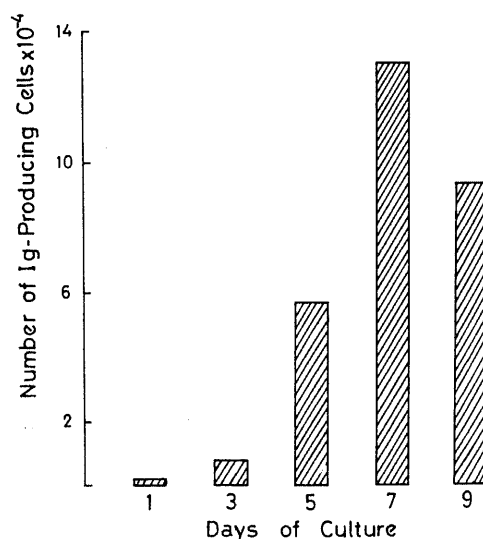


Fig. 2. Number of Ig-producing cells in the culture of adult peripheral blood lymphocytes (1×10^6 cells) at various time intervals after pokeweed mitogen-stimulation ($5\mu\text{l/ml}$).

制効果を示さなかった。T γ 細胞とTnon- γ 細胞を3:7で組合わせた場合は、-28.6%と軽度の抑制効果がみられた。

5. 臍帯血T細胞の抑制能に対する放射線照射の影響

臍帯血T細胞に前もって2000radsの放射線照射、又はmitomycin処理を行うと、混合培養における成人B細胞の分化に対する抑制効果は完全に消失した(表3)。同様にTnon- γ 細胞の抑制能も2000radsの放射線照射によって消失した。T γ 細胞とTnon- γ 細胞を3:7に組合わせた場合、Tnon- γ 細胞に放射線照射した時のみ抑制効果が除かれた。

6. 乳幼児T細胞、Tnon- γ 細胞の成人B細胞分

化抑制能

乳幼児4例について、未分画T細胞、Tnon- γ 細胞の抑制能を検討した。図3に示したように、乳幼児Tnon- γ 細胞も成人B細胞の分化を抑制し、その抑制活性は年齢とともに減弱していくようであった。

考 察

成人PBLと臍帯血T細胞をPWMとともに混合培養する系で、臍帯血T細胞には免疫複合体等の処理を必要としない自然なB細胞分化抑制能があることを示した。この結果はHaywardら⁶⁾、Oldstoneら⁷⁾の報告と一致した。Oldstoneら⁷⁾が指摘したように、臍帯血T細胞は成人T細胞の約3倍のT γ 細胞を含ん

Table I. Surface markers on T cell subpopulations fractionated by rosette separation methods^a

T Cell Populations	E-RFC ^b (%)	EA(IgG) ^c -RFC (%)	SIg ^{+d} (%)	Monocytes ^e (%)
Cord Blood				
Total T	81.3±5.0	25.1±8.4	1.4±1.2	2.3±0.5
T γ	71.6±4.5	67.0±3.4	3.2±1.5	7.0±4.4
Tnon- γ	84.0±9.5	0.5	0.5	0.5
Adult Peripheral Blood				
Total T	93.3±2.5	9.6±4.7	0.5	0.5
T γ	87.3±2.3	74.7±6.1	1.2±0.8	0.5
Tnon- γ	96.0±2.0	0.5	0.5	0.5

- a. Results represent the arithmetic means \pm 1 S.D. of three experiments.
- b. RFC, rosette forming cells.
- c. EA(IgG), ox erythrocytes coated with the IgG fraction of rabbit antisera.
- d. SIg⁺, surface immunoglobulin-bearing cells.
- e. Monocytes were determined by peroxidase method.

Table II. Suppressor activity of unfractionated T cells evaluated by co-culturing with unrelated adult PBL in the PWM system^a

No. of T Cells Added ($\times 10^5$)	% Change	
	Cord blood	Adult peripheral blood
2.5	-32.3±9.3	+9.6±9.6
5.0	-77.9±9.2	+16.3±6.6
10.0	-96.6±2.3	+21.0±25.1

- a. Graded numbers of T lymphocytes were added to unrelated adult PBL (5×10^5) and co-cultured with PWM for 7 days. Results were expressed as a percentage change in numbers of Ig-producing cells from individual control without added T cells and represent the means \pm 1 S.D. of five experiments.

Table III. Suppressor activity of T cell subpopulations evaluated by co-culturing with unrelated adult PBL in the PWM system^a.

T Cell Populations Added	% Change	
	Cord blood	Adult peripheral blood
Total T	-71.6±7.9	+26.4±18.1
Total Tx ^b	+ 5.2±5.1	N.D. ^c
Total Tmc ^d	+18.3±8.5	N.D.
Tnon- γ	-60.4±6.8	+28.5±24.8
Tnon- γ x	+13.4±17.2	N.D.
T γ	+20.5±13.5	-45.7±19.8
T γ x	+16.6±12.6	N.D.
T γ +Tnon- γ ^e	-67.9±14.6	-28.6±13.6
T γ x+Tnon- γ	-59.4±11.4	N.D.
T γ +Tnon- γ x	+17.2±13.4	N.D.

- a. Equal numbers (5×10^5) of T lymphocytes and unrelated adult PBL were co-cultured with PWM. Results were expressed as a percentage change in numbers of Ig-producing cells from individual control without added T cells and represent the mean \pm 1 S.D. of five experiments.
- b. x, irradiated with 2000 rads γ -irradiation from ⁶⁰Co source.
- c. N.D., not done.
- d. mc, treated with mitomycin (25 μ g/ml) at 37°C for 30 min.
- e. T γ cells and Tnon- γ cells were mixed at a ratio of 3:7.

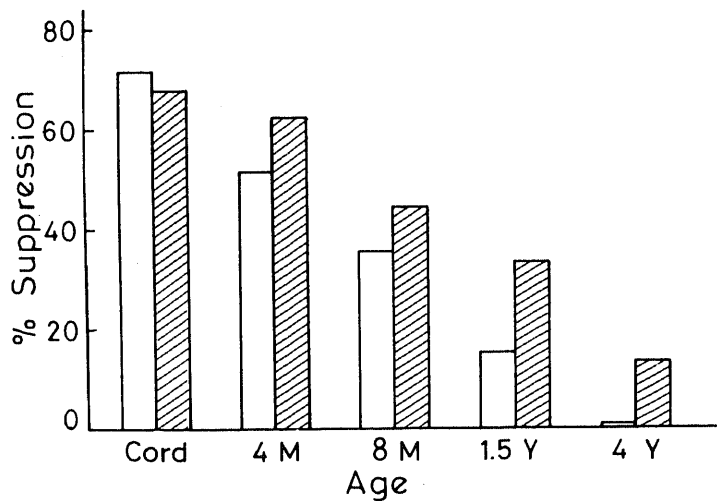


Fig. 3. Suppressor activity of unfractionated T cells and Tnon- γ cells from four infants of various ages on pokeweed mitogen-induced adult B cell differentiation. 5×10^5 unfractionated T cells or Tnon- γ cells from infants were added to adult peripheral blood lymphocytes (5×10^5 cells) and cultured with pokeweed mitogen for 7 days. Open column: suppressor activity of unfractionated T cells, hatched column: suppressor activity of Tnon- γ cells.

ていた。OldstoneらはこのT γ 細胞が母体血中によく証明されるIgG免疫複合体と作用して、Morettaら⁵⁾が成人T γ 細胞で示したごとく、B細胞分化に抑制的に働くのだらうと推定した。しかし今回の実験成績から、臍帯血T γ 細胞は成人T γ 細胞と異なり、IgG免疫複合体と結合した後も成人B細胞分化に抑制効果を示さず、むしろTnon- γ 細胞に未分画T細胞に匹敵する抑制活性が認められた。健康成人から得たTnon- γ 細胞はB細胞分化に抑制効果を示さなかったことより、臍帯血Tnon- γ 細胞には成人と異なる特異な抑制T細胞が含まれていると思われた。Morettaら⁵⁾、又最近ではHaywardら¹⁹⁾が示したごとく、成人T γ 細胞、臍帯血T γ 細胞を、T μ 細胞を除くことによって分画すると、成人B細胞の分化に抑制的に働かないことから、臍帯血未分画T細胞に自然にみられるB細胞分化抑制能は、主にTnon- γ 細胞の抑制能によるものと思われる。臍帯血Tnon- γ 細胞の抑制能は放射線照射により完全に消失し、臍帯血抑制T細胞は放射線感受性であることが示された。Miyawakiら⁹⁾は、乳幼児未分画T細胞にも臍帯血未分画T細胞にみられると同様なB細胞分化抑制能があり、生後2~3才で消失することを示したが、臍帯血と同様に乳幼児Tnon- γ 細胞にも抑制活性がみられ、年令とともに減弱することが明らかとなった。

実験動物においても新生児期のT細胞にB細胞分化を抑制する作用のあることが報告されており^{16)~19)}、マウスではこの抑制T細胞の活性が生後3~4週で失われることが明らかになっている^{16)~19)}。しかもこの新生児期の抑制T細胞は、成熟マウスの抑制T細胞が主にLy 1⁺, 2, 3⁺という膜抗原のphenotypeを持つのに対し、Ly 1⁺, 2, 3⁺という異ったphenotypeに属する²⁰⁾という点で非常に興味深い。

最近著者らは、駆虫剤として開発され、種々の免疫不全状態に試みられている^{21)~23)}レバミゾールを用いてT細胞にB細胞分化抑制能を誘導できることを報告した²⁴⁾。健康成人にレバミゾールを内服させ、服用後3日目に末梢血からT細胞得て成人PBLと混合培養すると、成人B細胞の分化は著明に抑制された。この抑制能は主にTnon- γ 細胞に見出された。このように、成人においてもある条件下ではTnon- γ 細胞に抑制T細胞を誘導することが可能であり、Tnon- γ 細胞はMorettaら⁵⁾が示したごとく helper T細胞を含むものの、均一な細胞集団ではないことが強く示唆された。

ヒト臍帯血T細胞及び乳幼児T細胞にみられる成人B細胞分化抑制能が、どのようなT細胞subsetによって発揮されるかを検討し以下の結論を得た。

1. 臍帯血Tnon- γ 細胞は、成人Tnon- γ 細胞と異なり、成人B細胞分化に強い抑制効果を示し、臍帯血未分画T細胞の抑制活性は主にTnon- γ 細胞にあると思われた。

2. 臍帯血T γ 細胞は、IgG免疫複合体と結合した後も成人B細胞の分化に抑制効果を示さなかった。

3. 臍帯血抑制T細胞は、放射線又はmitomycinに感受性があり、その抑制能を失った。

4. 乳幼児T細胞にみられるB細胞分化抑制能も、臍帯血の場合と同様にTnon- γ 細胞にあると思われ、年令とともに減弱した。

文 献

1. Wu, L. Y. F., Lawton, A. R. & Cooper, M. D. : Differentiation capacity of cultured B lymphocytes from immunodeficient patients. *J. Clin. Invest.*, **52**, 3180-3189(1973).
2. Waldman, T. A., Durm, M., Broder, S., Blackman, M., Blaese, R. M. & Strober, W. : Role of suppressor T cells in pathogenesis of common variable immunodeficiency. *Lancet*, **2**, 609-613(1974).
3. Keightley, R. G., Cooper, M. D. & Lawton, A. R. : The T cell dependence of B cell differentiation induced by pokeweed mitogen. *J. Immunol.*, **117**, 1538-1544(1976).
4. Janossy, G. & Greaves, M. : Functional analysis of murine and human B lymphocyte subsets. *Transplant. Rev.*, **24**, 177-236(1975).
5. Moretta, L., Webb, S. R., Grossi, C. E., Lydyard, P. M. & Cooper, M. D. : Functional analysis of two human T-cell subpopulations : help and suppression of B-cell responses by T cells bearing receptors for IgM and IgG. *J. Exp. Med.*, **146**, 184-200(1977).
6. Hayward, A. R. & Lawton, A. R. : Induction of plasma cell differentiation of human fetal lymphocytes : evidence for functional immaturity of T and B cells. *J. Immunol.*, **119**, 1213-1217(1977).
7. Oldstone, M. B. A., Tishon, A. & Moretta, L. : Active thymus derived suppressor lymphocytes in human cord blood. *Nature*, **269**, 333 -

335(1977).

8. Miyawaki, T., Seki, H., Kubo, M. & Taniguchi, N. : Suppressor activity of T lymphocytes from infants assessed by co-culture with unfractionated adult lymphocytes in the pokeweed mitogen system. *J. Immunol.*, **123**, 1092-1096(1979).

9. Böyum, A. : Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Lab. Invest.*, **21**(Suppl. 97), 77-89(1968).

10. Weiner, M. S., Bianco, C. & Nussenzweig, V. : Enhanced binding of neuraminidase-treated sheep erythrocytes to human T lymphocytes. *Blood*, **42**, 939-946(1973).

11. Moriya, N., Nagaoki, T., Okuda, N. & Taniguchi, N. : Suppression of adult B cell differentiation in pokeweed mitogen-stimulated cultures by Fc (IgG) receptor-negative T cells from cord blood. *J. Immunol.*, **123**, 1795-1798(1979).

12. Taniguchi, N., Miyawaki, T., Moriya, N., Nagaoki, T., Kato, E. & Okuda, N. : Mitogenic responsiveness and monocyte-lymphocyte interaction of early and late rosette-forming cell populations of human peripheral blood lymphocytes. *J. Immunol.*, **118**, 193-197(1977).

13. Papamichail, M., Brown, J. C. & Holborow, E. J. : Immunoglobulins of the surface of human lymphocytes. *Lancet*, **2**, 850-852(1971).

14. Kearny, J. F. & Lawton, A. R. : B lymphocytes differentiation induced by lipopolisaccharides. I. Generation of cells synthesizing four major immunoglobulin classes. *J. Immunol.*, **115**, 671-676(1975).

15. Hayward, A. R. & Lydyard, P. M. : Suppression of B lymphocytes differentiation by newborn T lymphocytes with an Fc receptor for IgM. *Clin. Exp. Immunol.*, **34**, 374-378(1978).

16. Mosier, D. E. & Johnson, B. M. : Ontogeny of

mouse lymphocytes function. II. Development of the ability to produce antibody is modulated by T lymphocytes. *J. Exp. Med.*, **141**, 216-226(1975).

17. Morse III, H. C., Prescott, B., Cross, S. S., Stashak, P. W. & Baker, P. J. : Regulation of the antibody response to type III pneumococcal polysaccharide. V. Ontogeny of factors influencing the magnitude of the plaque-forming cell response. *J. Immunol.*, **116**, 279-287(1976).

18. Hardy, B. & Mozes, E. : Expression of T cell suppressor activity in the immune response of newborn mice to a T-independent synthetic polypeptide. *Immunology*, **35**, 757-762(1978).

19. Calkins, C. E. & Stutman, O. : Changes in suppressor mechanisms during postnatal development in mice. *J. Exp. Med.*, **147**, 87-97(1978).

20. Mosier, D. E., Mathieson, B. J. & Campbell, P. S. : Ly phenotype and mechanism of action of mouse neonatal suppressor T cells. *J. Exp. Med.*, **146**, 59-73(1977).

21. Tripodi, D., Parks, L. C. & Brugams, J. : Drug-induced restoration of cutaneous delayed hypersensitivity in anergic patients with cancer. *New Eng. J. Med.*, **289**, 354-357 (1973).

22. Verhaegen, H., De Cree, J., De Cook, W. & Verbruggen, F. : Levamisole and the immune response. *New Eng. J. Med.*, **289**, 1148-1149 (1973).

23. Verhaegen, H., De Cree, J., Verbruggen, F., Hoebecke, J., De Brabender, M. & Brugmans, J. : Immune responses in elderly cuti-negative subjects and the effect of levamisole. *Ver. dtsh. ges. Inn. Med.*, **79**, 623-629(1973).

24. Moriya, N., Miyawaki, T., Seki, H., Kubo, M., Nagaoki, T., Okuda, N. & Taniguchi, N. : Induction of suppressor activity on B cell differentiation in human T-cell subset without Fc(IgG)receptors by levamisole administration. *Scand. J. Immunol.*, **10**, 535-541(1979).

Suppressor Activity of Cord Blood T Lymphocytes on Adult B Cell Differentiation in the Pokeweed Mitogen System [I] Effect of Cord T Cell Subsets (T γ , Tnon- γ cells) on the Generation of Immunoglobulin-producing Cells in the Culture of Adult Peripheral Blood Lymphocytes
Naoki Moriya, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan. *J. Juzen Med. Soc.*, 89, 354-361 (1980).

Abstract Human newborn T lymphocytes obtained from cord blood have been shown to suppress adult B cell differentiation in the pokeweed mitogen (PWM)-stimulated co-culture system. In this study, cord blood T cells were fractionated into T cells bearing Fc receptors for IgG (T γ cells) and T cells lacking Fc receptors for IgG (Tnon- γ cells) by rosette formation with ox erythrocytes coated by IgG fraction of rabbit antisera followed by Ficoll-Isopaque density gradient centrifugation. These cord T cell subsets were co-cultured with adult peripheral blood lymphocytes with PWM for 7 days. T γ cells from cord blood, even though isolated after the interaction with IgG immune complexes, did not show any significant suppressor activity ($+20.5 \pm 13.5\%$) on adult B cell differentiation. But, Tnon- γ cells exerted strong suppression ($-60.4 \pm 6.8\%$) to an extent similar to that by unfractionated cord T cells. The suppressor activity of cord Tnon- γ cells as well as unfractionated cord T cells was completely abrogated by irradiation with 2,000 rads prior to co-culture.

Unfractionated T cells from healthy infants up to 2 years of age have also been shown to suppress adult B cell differentiation in the PWM system. Suppressor activity of unfractionated T cells and Tnon- γ cells from four healthy infants was evaluated. Tnon- γ cells as well as unfractionated T cells from younger infants suppressed adult B cell differentiation and gradually lost their suppressor activity with advancing age.

These results indicated that, contrary to suppressor function found in adult T cells, the suppressor activity of cord T cells and of infant's T cells might be exerted by a T cell subset lacking Fc receptors for IgG.