

呼吸器疾患におけるリンパ球に関する免疫学的研究

第2篇 サルコイドーシス患者血清のヒト・リンパ球のヒツジ赤血球による rosette formation 阻害作用に関する研究

京都大学結核胸部疾患研究所 内科学第二

真 弓 哲 二

(昭和52年12月31日受付)

緒 言

近年の免疫学, 特にリンパ球に関する研究の進展により, ツベルクリン反応, DNCB テスト, あるいは, γ -グロブリン, 免疫グロブリンの定量などによるヒトの免疫機能の判定方法に加えて, Tリンパ球 (T-cell) 数, Bリンパ球 (B-cell) 数, Tリンパ球, Bリンパ球の Mitogen による機能の測定が行なわれるようになり, 各種疾患における免疫学的動態の検討に大きな進展がもたらされるようになってきている。

著者は, 呼吸器疾患の免疫学的動態を究明する一つの方法として各種呼吸器疾患患者の末梢血リンパ球について sheep red blood cell rosette forming cells (SRBC-RFC) をTリンパ球, surface immunoglobulin bearing cells (SIBC) および complement receptor cells (CRC) をBリンパ球の marker として, リンパ球の sub-population を検討し, その成績は第1篇¹⁾において報告した。すなわち, サルコイドーシス, 肺癌, 慢性気管支感染症, 肺結核症などでは, Tリンパ球の減少が, またサルコイドーシス, 肺結核症ではBリンパ球の増加が認められている。しかしながら, 著者の用いた測定方法によって得られたTリンパ球数を直ちに各症例における真のTリンパ球数と解釈する前にいくつかの検討すべき課題が残されていることが指摘される。リンパ球のヒツジ赤血球に対する recep-

tor を指標としてTリンパ球数の算定を行なっているのであるから, SRBC-RFC の減少が認められた理由として, Tリンパ球数が真に減少しているのかあるいはreceptorの数的もしくは機能的な欠損があるためか, またはreceptorがブロックされたためかという点について検討することが必要と考えられる。特に最近, 血清中の多くの免疫抑制作用物質について報告があり²⁻⁹⁾, 著者の研究対象の場合も血清中になんらかの阻害物質が存在して, リンパ球の receptor がブロックされるため, Tリンパ球数が見かけ上減少している可能性が想定された。

著者は, Tリンパ球数の減少が示されたサルコイドーシス, 肺癌, 肺結核症症例の血清の sheep red blood cell rosette forming cells および complement receptor cells の測定に及ぼす阻害効果について検討を加えたところ, これら各疾患の血清にはいずれも明らかなTリンパ球のヒツジ赤血球との rosette formation の阻害作用があることを認めた。さらに血清中のヒツジ赤血球との rosette formation 阻害物質 (以下 SRBC-RF inhibitor) の性状について検討を加えた結果, とくにサルコイドーシス血清では γ -グロブリン分画中の IgG 分画に SRBC-RF inhibitor が存在することを証明したのでこれについて報告する。

研究対象および研究方法

1. 被検血清

先に著者が報告⁹⁾したように, SRBC-RFC を指標とする T リンパ球数の明らかな減少が認められた疾患について血清の SRBC-rosette formation 阻害作用について調べるため, サルコイドーシス 5 例 (活動期), 肺癌 5 例 (扁平上皮癌 2 例, 腺癌 1 例, 未分化癌 2 例), 肺結核症 5 例 (排菌陽性, 活動期) のすべて全身状態良好な患者の血清と, 他に対照として 5 例の健常人血清を用いた。

SRBC-RF 阻害物質の性状の検討においては, これらの被検者の各グループについてそれぞれ 5 例の血清をプールして研究に用いた。なお血清および血清より分画した諸材料はすべて -20°C に保存し, 使用時溶解して用いた。また血清は後述する理由からすべて 56°C , 30 分非働化処理を行ない, さらに等量のヒツジ赤血球にて吸収して用いた。

2. リンパ球の分離, T リンパ球数, B リンパ球数の測定方法

リンパ球の分離, SRBC-RFC による T リンパ球数, CRC による B リンパ球数の測定方法はすべて第 1 篇⁹⁾で述べたのと同様の方法を用いた。

3. Rosette formation 阻害作用の検討

血清中の rosette formation 阻害物質の検討にあたっては, T リンパ球数, B リンパ球数の測定の前に健常人リンパ球と被検材料とを incubate する方法を用いた。すなわち末梢血リンパ球 $5 \times 10^6/\text{ml}$ を含む 0.5 ml の Eagle medium に被検材料 0.5 ml を混合し, 37°C , 30 分 water-bath 内で incubate した。その後 10% foetal calf serum 加 Eagle-medium にて 1500 回転, 5 分, 3 回遠沈洗浄し, 血清を洗浄除去した後, T リンパ球数, B リンパ球数の測定を行なった。対照としては, 被検材料のかわりに PBS と混合処理したリンパ球における測定値を用いた。

4. 硫酸分画法による血清中の SRBC-RF 阻害物質の分離

健常人, サルコイドーシス, 肺癌, 肺結核症患者の各プール血清 4 ml に飽和硫酸溶液 (pH 8.0) を 2 ml 加え, 1/3 飽和とした。15 分静置後, 2500 回転, 15 分間遠沈し, 上清分画を分離した (S 分画)。沈渣に PBS を加えて 4 ml に溶解し, 2 ml の飽和硫酸溶液を加え遠沈する操作を 2 回反覆し, 沈渣分画 (P 分画) を作製した。S 分画および P 分画は, 生理的食塩水を用いて 4°C , 48 時間の透析操作を行ない, 硫酸アンモニウムを除去した。

S 分画および P 分画の rosette formation 阻害作用の検討にあたっては Folin の方法¹⁰⁾にて測定した蛋白濃度を用いた。さらに S 分画と P 分画についてセルローズアセテート膜による電気泳動を行なって, 各分画に含まれる蛋白成分について検討した。その結果, P 分画は多量の γ -グロブリンを含んでおり, 一方, S 分画に含まれる γ -グロブリンはごく少量に過ぎないという成績を得た。

5. 抗免疫グロブリン血清による γ -グロブリン分画の吸収操作

サルコイドーシス血清の P 分画 (多量の γ -グロブリンが存在する) に含まれるいずれの免疫グロブリン分画中に SRBC-RF 阻害物質が存在するか否かについて検討するために, 抗免疫グロブリン血清を用いて, 免疫グロブリン分画の吸収操作を行なった。

抗免疫グロブリン血清としては, Hyland 社製の抗 IgM, IgA, IgG ウサギ血清を用いて, オークタロニー法による沈降反応によってあらかじめ測定した至適濃度 (被検血清に対する抗血清の比率は IgM, 1:1, IgA, 1:1, IgG, 1:4) において各 2 ml ずつ混合し, 4°C , 24 時間静置後, 15000 回転, 1 時間遠沈し, IgM, IgA, IgG 分画を吸収除去した。

成 績

1. 研究対象としたサルコイドーシス, 肺癌, 肺結核症各 5 例と, 別に対照として健常人 5 例について末梢血中の SRBC-RFC (T-cell) と CRC (B-cell) を測定した。その成績は **Table 1** に示す如く, SRBC-RFC の比率 (Mean $\pm$ S.E.

Table 1 Percentages of E-rosette forming cells (T-cell) and EAC-rosette forming cells (B-cell) in peripheral lymphocytes of serum-donors

Serum-donor				SRBC-RFC (T-cell)	CRC (B-cell)
	No.	Sex.	Age		
Healthy	1	♂	36	55	19
	2	♂	37	51	24
	3	♂	31	64	20
	4	♀	30	61	22
	5	♂	35	56	24
	Mean±S.E.			57±2	22±1
Sarcoidosis	1	♂	23	40	32
	2	♂	23	39	32
	3	♂	29	45	31
	4	♂	22	49	27
	5	♀	39	30	38
	Mean±S.E.			41±3	32±2
Pulmonary carcinoma	1	♂	68	32	21
	2	♀	52	37	20
	3	♂	48	41	27
	4	♂	52	24	19
	5	♂	77	48	23
	Mean±S.E.			36±4	22±1
Pulmonary tuberculosis	1	♀	60	36	21
	2	♂	54	39	14
	3	♂	45	42	26
	4	♂	69	40	24
	5	♂	66	28	28
	Mean±S.E.			37±2	23±3

%) はサルコイドーシス $41 \pm 3\%$ 、肺癌 $36 \pm 4\%$ 、肺結核症 $37 \pm 2\%$ といずれも対照群 $57 \pm 2\%$ に比して有意に低かった (すべて $P < 0.01$)。また CRC の比率 (Mean±S.E. %) についてもサルコイドーシスは $32 \pm 2\%$ と対照に比して有意 ($P < 0.01$) に高かったが肺癌では $22 \pm 1\%$ 、肺結核症では $23 \pm 3\%$ で、対照に比し、有意差を認めなかった。この成績は第1篇¹⁾で著者がこれらの疾患について測定した SRBC-RFC および CRC の成績と同様であった。即ち今回の研究対象としたサルコイドーシス、肺癌および肺結核症の患者では、何れも末梢血中の SRBC-RFC の比率が健常人に比して低率であった。

2. 健常人対照血清の rosette formation 阻害作用

健常人 (donor) リンパ球を、 56°C 、30分非働化した別の健常人(対照)血清で処理したのちに rosette formation を行なうと、E-rosette formation, EAC-rosette formation とともに全くロゼット形成は認められなかった。この原因としてはヒツジ赤血球に対する自然抗体が対照血清中に含まれているためと考えられたので、 56°C 、30分非働化血清をまずヒツジ赤血球を用いて吸収した後、**Table 2** に示したように血清を順次 1:1 から 1:32 まで倍数希釈し、リンパ球と反応させた。そのリンパ球の E-rosette formation および EAC-rosette formation を測定したところ、E-rosette formation に関しては8倍以上に

Table 2 Percentages of E-rosette forming cells and EAC-rosette forming cells after treatment with diluted sera of healthy humans

Method	Experiment*	Control	Dilutions of sera					
			1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
E-rosette forming cells	1	47	36	39	N. D.	44	N. D.	45
	2	61	47	52	50	59	57	64
	3	51	43	42	47	56	55	53
EAC-rosette forming cells	1	23	13	18	21	16	25	23
	2	19	11	14	15	17	22	20
	3	26	16	18	15	20	24	22

N.D.: not done

* Lymphocytes were collected from different donor for each experiment.

血清を希釈した場合には全く阻害作用が認められないことが判明した (**Table 2**)。従って以後の実験ではすべての被検血清について SRBC-RFC の測定は、8 倍希釈したもの、また CRC の測定時には16倍希釈したものを使用した。

3. サルコイドーシス、肺癌、肺結核症患者血清の rosette formation 阻害作用

E-rosette formation に対する阻害作用についての実験成績は **Table 3** に示すごとく 健常人血清 5 例の阻害作用の上限値が10%であったので、11%以上を有意の阻害作用があるものと考えた。この基準に従えばサルコイドーシス患者血清と肺結核患者血清についてはいずれも 5 例全例について阻害作用を認めたが、一方肺癌患者血清については 5 例中 3 例にのみ阻害作用が認められた。

また、EAC-rosette formation の阻害作用の検討は、16倍希釈血清を用いて行なったところ、阻害率についてはサルコイドーシス患者血清、肺癌患者血清、肺結核患者血清と対照である健常人血清の間に有意の差を認めることはできなかった。

4. 健常人、サルコイドーシス、肺癌、肺結核患者血清の γ -グロブリン分画の E-rosette formation 阻害作用

サルコイドーシス、肺結核患者血清および一部の肺癌患者血清に E-rosette formation の阻害作用を有することが認められたので、この阻害作用物質の性状を検討する手段として、硫酸分画法を用い、S 分画と P 分画に分け、各分画の E-rosette formation 阻害作用について検討を加えた。その成績を **Figure 1, 2** に示す。血清の 8 倍希釈濃度は S 分画においては蛋白濃度 500–1000 mg/dl, P 分画では 100–500 mg/dl の蛋白濃度に相当する。

S 分画においては **Figure 1** に示すようにすべての疾患群と対照群との間に阻害作用について有意の差異は認められなかった。一方 **Figure 2** に示すように、P 分画においてはサルコイドーシス患者血清のみは 10 mg/dl 以上の濃度で著明な阻害作用を示したが、一方、肺癌患者、肺結核患者血清では健常人に比較して有意差を認めることはできなかった。

5. サルコイドーシス血清の γ -グロブリン分画の抗免疫グロブリン血清による吸収操作後の rosette formation 阻害作用

サルコイドーシス血清の γ -グロブリンを主とする P 分画中に存在する免疫グロブリン IgM, IgA, IgG が阻害活性を有するか否かについて検討するため、抗ヒト IgM-, IgA-, IgG-

Table 3 Percentages of E-rosette forming cells and EAC-rosette forming cells after treatment with sera obtained from patients or healthy humans.

Method	Experiment*	Control	Serum			
			Healthy	Sarcoidosis	Pulmonary carcinoma	Pulmonary tuberculosis
E-rosette forming cells	1	50	47(6)	38(24)	44(12)	40(20)
	2	55	50(9)	38(31)	48(13)	44(18)
	3	52	50(4)	41(21)	49(6)	45(13)
	4	63	57(10)	47(25)	50(21)	52(17)
	5	51	53(–4)	37(27)	54(–6)	40(22)
EAC-rosette forming cells	1	25	21(16)	18(28)	20(20)	16(36)
	2	19	19(0)	15(21)	15(21)	13(32)
	3	26	22(15)	21(19)	20(23)	24(8)
	4	21	18(14)	16(24)	18(14)	19(10)
	5	24	18(25)	24(0)	17(29)	22(8)

Number in Parenthese shows % rosette inhibition ratio

$$\left(\frac{\text{Control group value} - \text{Experimental group value}}{\text{Control group value}} \times 100 \right)$$

* Lymphocytes were collected from different donor for each experiment.

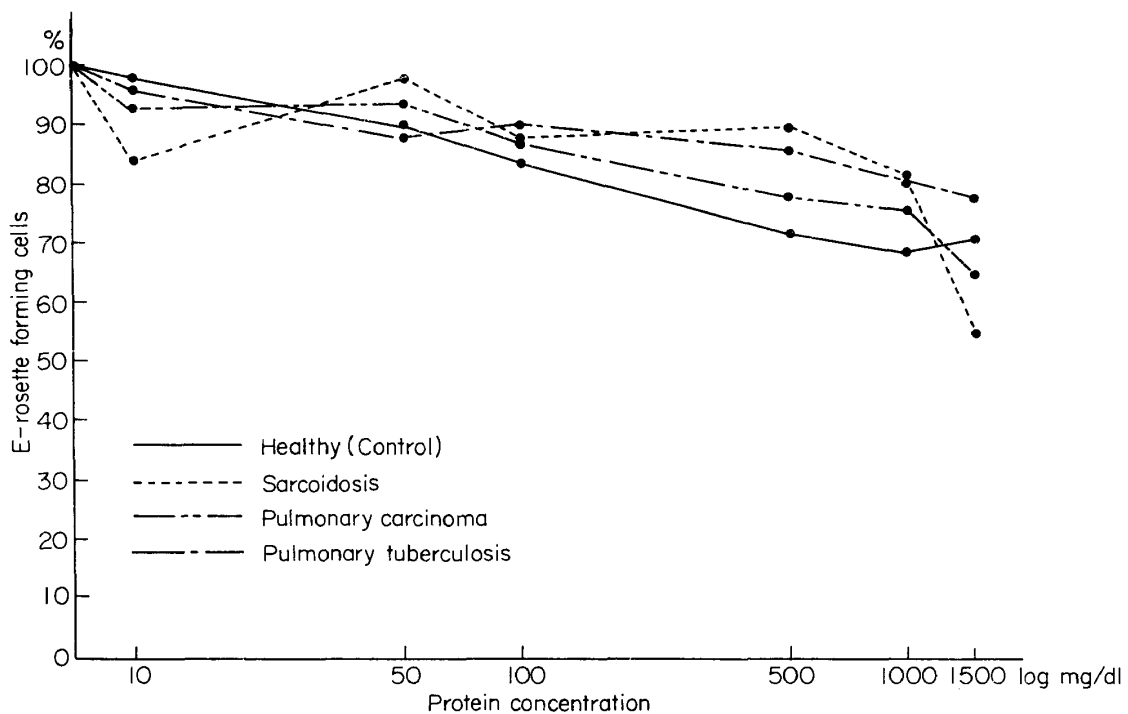


Fig. 1 Percentages of E-rosette forming cells after treatment with Fraction S of serum.

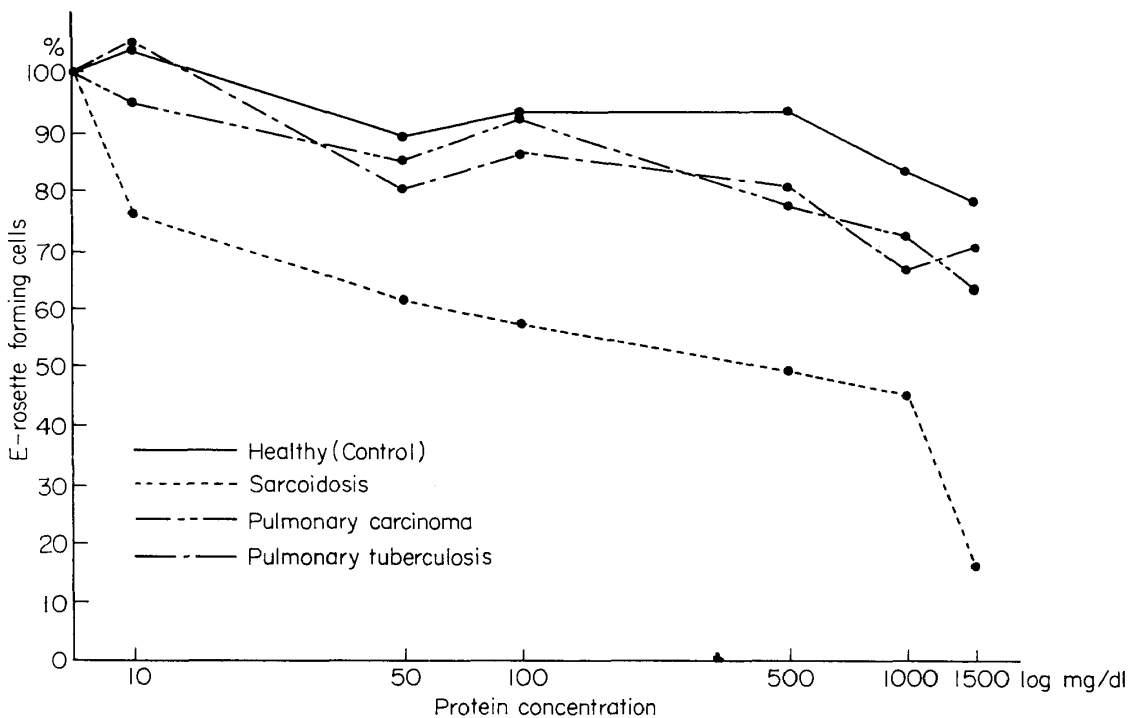


Fig. 2 Percentages of E-rosette forming cells after treatment with Fraction P of serum.

ウサギ血清で吸収操作を行なった後の上清を用いて阻害活性の検討を行なった。Table 4 に示すように、抗 IgG 血清で吸収した後の上清の阻害率 (Inhibition ratio) は $4 \pm 3\%$ で、吸収前の阻害率 $39 \pm 2\%$ に比して著明に減少していた。一方、抗 IgM 血清あるいは抗 IgA 血清で

吸収した後の阻害率はそれぞれ $26 \pm 2\%$, $25 \pm 3\%$ で、抗 IgG 血清による吸収後の阻害率に比して著明な差異が認められた。この成績はサルコイドーシス患者血清中の E-rosette formation 阻害物質の一つが、血清中の IgG 分画に存在することを示していると考えられた。

Table 4 Percentages of E-rosette forming cells after treatment with Fraction P absorbed by anti-immunoglobulin-rabbit-sera

Tested Material		Experiment*					Mean ±S.E.	Inhibition ratio (Mean ±S.E.)
		1	2	3	4	5		
Control		48	56	53	51	47	51±2	0±0
Fr. P	without treatment	33	34	29	32	27	31±1	39±2
	absorbed with anti human IgM rabbit serum	39	41	36	39	35	38±1	26±2
	absorbed with anti human IgA rabbit serum	42	40	38	36	34	38±1	25±3
	absorbed with anti human IgG rabbit serum	50	54	52	44	45	49±2	4±3

$$\text{Inhibition ratio (\%)} = \frac{\text{Control group value} - \text{Experimental group value}}{\text{Control group value}} \times 100$$

* Lymphocytes were collected from different donor for each experiment

考 按

サルコイドーシス、肺癌、肺結核症症例の末梢血における sheep red blood cell rosette forming cells を指標とした場合の T リンパ球数減少の機序を検討する目的で、健常人、サルコイドーシス、肺癌、肺結核患者血清について、その健常人リンパ球に対する rosette formation 阻害因子に関する研究を行なった。

健常人血清においても一定濃度以上を用いた場合には、非特異的阻害作用を認めたが、サルコイドーシス、肺癌、肺結核患者血清では、健常人血清が阻害作用を示さない希釈濃度において E-rosette formation 阻害作用が認められた。したがってこれらの疾患において sheep red blood cell rosette forming cells を T リンパ球の指標とする限り、血清中のこれらの阻害物質による T リンパ球の見かけ上の減少がもたらされることは明らかである。さらに血清を硫酸分画法によって分画すると、サルコイドーシス血清のみについて γ -グロブリンを多量含む P 分画に阻害活性が認められた。肺癌、肺結核患者血清に阻害物質の存在が認められたにもかかわらず、これらの血清の硫酸分画では S 分画、P 分画のいずれの分画にも阻害作用が認められなかった。この理由としては、SRBC-RF inhibitor の一部が透析によって除去される低分子物質である可能性¹¹⁾、あるいは一部の阻害物質が両分画に分

断されてしまった可能性が考えられる。しかしいずれにせよ、この成績からヒトの血清の E-rosette formation 阻害効果は全体としては単一物質によるものではなく、複数の阻害物質による効果であると考えられる。

最近、免疫調節機構の解析が進むにつれ、cellular、あるいは humoral なレベルでの免疫調節作用因子の存在が明らかにされている。液性因子に関しては、リンパ球の PHA 反応抑制効果を中心に多くの免疫抑制作用物質に関する報告がある¹²⁻¹⁹⁾。

E-rosette forming cell に関して Whitehead²⁰⁾ らは肺癌患者血清が、健常人リンパ球の rosette formation を阻害するということを報告している他、Daniele ら²¹⁾ はサルコイドーシス患者血清中には T リンパ球に対する抗体があり、E-rosette formation を抑制するということを報告している。また 志摩²²⁾ は健常人リンパ球を一昼夜 40°C で培養した後、そのリンパ球について E-rosette formation の低下を認め、その阻害物質は γ -グロブリン分画に存在するということを報告している。

サルコイドーシスにおいては、ツベルクリン反応の減弱をきたすことは旧くより報告されている事実であるが、この原因として Pickert ら²³⁾ は anticulin, Wells ら²⁴⁾ は, tuberculin-neutralizing factor を挙げている。

近年の臨床免疫学の研究の進展により、サル

コイドーシスにおいては遅延型反応に關与する末梢リンパ球の減少²⁵⁾, また Tリンパ球の質的^{26~28)}, 量的^{29,30)} な機能低下が報告されている。そしてこの Tリンパ球の機能低下の原因としては血清中に阻害物質が存在するとの報告^{31,32)} も行なわれている。すなわち E-rosette formation 阻害に關する前述の Daniele ら²¹⁾, 志摩ら²²⁾ の報告がある他, Mangi³³⁾, Belche³⁴⁾ らは PHA によるリンパ球の transformation の抑制因子もサルコイドーシス患者の血清中に存在すると報告している。

著者はサルコイドーシス患者血清中の γ -グロブリン特に IgG 分画に E-rosette formation 阻害物質が存在することを証明した。この物質が Daniele ら²¹⁾ のいう Tリンパ球に対する抗体と同一のものか否か, あるいは実験方法は異なるが, 志摩ら²²⁾ の認めた γ -グロブリン分画中の E-rosette formation 阻害物質とどのような関連性を有するかという点については現在のところ不明である。またこの活性物質の血清中での消長と臨床像との関連性やその産生機序についても今後の検討が必要と思われる。

最近 Jones Williams ら^{35,36)} はサルコイドーシス結節中の類上皮細胞が E-rosette formation 阻害物質を産生すると報告したが, 著者の証明したサルコイドーシス患者血清中の E-rosette formation 阻害物質と Jones Williams らの報告した阻害物質との関連性について研究することにより, 今日なお不明のままであるサルコイドーシスの発症機序を解明する手がかりが得られるのではなかろうかと考える。

要 約

1. サルコイドーシス, 肺結核患者血清は, 全例について健常人末梢血リンパ球の E-rosette formation に対する阻害作用を有することが認められた。一方, 肺癌患者血清については, 5 例中 3 例に E-rosette formation 阻害作用が認められた。また EAC-rosette formation に対する阻害作用についてはこれら 3 種類の疾患について著明な阻害作用は認められなかった。
2. 各患者血清を 1/3 飽和硫酸塩析法により分

画し, その上清と沈渣の E-rosette formation に対する作用を検討したところ, サルコイドーシス患者血清の沈渣分画のみ明らかな E-rosette formation の阻害作用が認められた。さらに抗ヒト IgG ウサギ血清でこの分画を吸収すると阻害活性が消失したところから, この阻害作用物質は IgG 分画に存在することが明らかにされた。

3. サルコイドーシス患者血清中に E-rosette formation 阻害物質が存在し, その本体が IgG であるという著者の成績は, サルコイドーシスにおける免疫異常の機序を説明する上に重要であるばかりでなく, 将来サルコイドーシスの発症機序の解明にとってもきわめて興味ある成績であると考えられる。

本研究に当り終始熱心な御指導をいただいた大島駿作教授, 泉孝英講師に深謝いたします。また研究に御協力いただいた長井苑子, 谷岡文子, 今井保代の各氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 真弓哲二: 呼吸器疾患におけるリンパ球に関する免疫学的研究—第 1 篇, 呼吸器疾患における末梢血リンパ球の Subpopulation に関する研究, 京大胸部研紀要, 10: 60, 1977.
- 2) Cooperband, S. R., Badger, A. M., Davis, R. C., Schmid, K., Mannick, J. A.: The effect of immunoregulatory alphaglobulin (IRA) upon lymphocytes in vitro, J. Immunol., 109: 154, 1972.
- 3) Silk, M.: Effect of plasma from patients with carcinoma on in vitro lymphocyte transformation, Cancer, 20: 2088, 1967.
- 4) Glasgow, A. H., Menzoian, J. O., Nimberg, R. B., Cooperband, S. R., Schmid, K., Mannick, J. A.: An immunosuppressive peptide fraction in the serum of cancer patients, Surgery, 76: 35, 1974.
- 5) Scheurlen, P. G., Schneider, W., Pappas, A.: Inhibition of transformation of normal lymphocytes by a plasma factor from patients with Hodgkin's disease and cancer, Lancet, II: 1265, 1971.
- 6) Dierks, R. E., Shepard, C. C.: Effect of phytohemagglutinin and various mycobacterial antigens on lymphocyte cultures from leprosy patients, Proc.

- Soc. Exp. Biol. Med., 127: 391, 1968.
- 7) Levene, G. M., Turk, J. L., Wright, D. J. M., Grimble, A. G. S.: Reduced lymphocyte transformation due to a plasma factor in patients with active syphilis, *Lancet*, 2: 246, 1969.
 - 8) Macsween, R. N. M., Thomas, M. A.: Lymphocyte transformation by phytohemagglutinin(PHA) and purified protein derivative (PPD) in primary biliary cirrhosis. Evidence of serum inhibitory factors, *Clin. Exp. Immunol.*, 15: 523, 1973.
 - 9) Belcher, R. W., Carney, J. F. and Nankervis, G. A.: Effect of sera from patients with sarcoidosis on in vitro lymphocyte response, *Int. Arch. Allergy*, 46: 183, 1974.
 - 10) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., et al: Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193: 265, 1951.
 - 11) Girmann, G., Pees, H., Schwarze, G. and Scheurlen, P. G: Immunosuppression by micro molecular fibrinogen degradation products in cancer, *Nature*, 259: 399, 1976.
 - 12) Bach, J. F., Dardenne, M. and Fournier, C.: In vitro evaluation of immunosuppressive drugs. *Nature*, (Lond.) 222: 998, 1969.
 - 13) Brain, P. and Gordon, J.: Rosette formation by peripheral lymphocytes. II. Inhibition of the phenomenon, *Clin. Exp. Immunol.*, 8: 441, 1971.
 - 14) Brain, P., Gordon, J. and Willetts, W. A.: Rosette formation by peripheral lymphocytes, *Clin. Exp. Immunol.*, 6: 681, 1970.
 - 15) Coombs, R. R., Gurner, B. W., Wilson, A. B., Holm, G. and Lindgren, B.: Rosette formation between human lymphocytes and sheep red cells not involving immunoglobulin receptors. *Int. Arch. Allergy*, 39: 658, 1970.
 - 16) Froland, S. S.: Binding of sheep erythrocytes to human lymphocytes. A probable marker of T lymphocytes, *Scand. J. Immunol.*, 1: 269, 1972.
 - 17) Kiskiss, D. F., Touraine, J. L. and Choi, Y. S.: The quantitation of human T lymphocytes by rosette formation, *Fed. Proc.*, 32: 869, 1973.
 - 18) Mortensen, R. F., Osmand, A. P., Gewurz, H.: Effects of C-reactive protein on the lymphoid system. I. Binding to thymus-dependent lymphocytes and alteration of their functions, *J. Exp. Med.*, 141: 821, 1975.
 - 19) Chisari, F. V., Edgington, T. S.: Lymphocyte E rosette inhibitory factor: A regulatory serum lipoprotein, *J. Exp. Med.*, 142: 1092, 1975.
 - 20) Whitehead, R. H., Thatcher, J., Teasdale, C., Roberts, G. P., Hughes, L. E.: T and B lymphocytes in breast cancer stage relationship and abrogation of T-lymphocyte depression by enzyme treatment in vitro, *Lancet*, 1: 330, 1976.
 - 21) Daniele, R. P., Rowlands, D. T. Jr.: Antibodies to T cells in sarcoidosis, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 278: 88, 1976.
 - 22) 志摩清ほか: サ症患者血清の末梢血 Monocyte の機能に及ぼす影響, *日胸疾会誌*, 15: 123, 1977.
 - 23) Pickert, M., Löwenstein, E.: Eine neue Methode zur Prüfung der Tuberkulinimmunität, *Dtsch. Med. Wschr.*, 34: 2262, 1908.
 - 24) Wells, A. Q., Wylie, J. A. H.: Tuberculin neutralizing factor in serum of patients with sarcoidosis, *Lancet*, 1: 439, 1949.
 - 25) Hoffbrand, B. I.: Occurrence and significance of lymphopenia in sarcoidosis, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 98: 107, 1968.
 - 26) Buckley, C. E., Nagaya, H., Sieker, H. O.: Altered immunologic activity in sarcoidosis, *Ann. Intern. Med.*, 64: 508, 1966.
 - 27) Silzbach, L. E. et al.: The immunology of sarcoidosis. *Immunological Diseases*, edited Sauter, M. Vth International Conference on Sarcoidosis, ed. by Levinsky, L. and Macholda, F.: 217, 1971.
 - 28) Horshmanheimo, M., Virolainen, M.: Correlation of phytohaemagglutinin-induced lymphocyte transformation with clinical manifestations of sarcoidosis, *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 82: 122, 1974.
 - 29) Fernández, B., Press, P., Girard, J. P.: Distribution and function of T- and B-cell subpopulations in sarcoidosis, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 278: 80, 1976.
 - 30) Hedfors, E., Horm, G., Petterson, G.: Lymphocyte subpopulations in sarcoidosis, *Clin. Exp. Immunol.*, 17: 219, 1974.
 - 31) Chisari, F. V., Edgington, T. S.: Lymphocyte E rosette inhibitory factor: A regulatory serum lipoprotein, *J. Exp. Med.*, 142: 1092, 1975.
 - 32) Kamrin, B. B.: Successful skin homografts in

- mature non-littermate rats treated with fractions containing alpha-globulins, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 100: 58, 1959.
- 33) Mangi, R. J., Dwyer, J. M. Kantor, F. S. The effect of plasma upon lymphocyte response in vitro. Demonstration of a humoral inhibitor in patients with sarcoidosis., Clin. Exp. Immunol., 18: 519, 1974.
- 34) Belcher, R. W., Garney, J. F., Nankervis, G. A.: Effect of sera from patients with sarcoidosis on in vitro lymphocyte response, Int. Arch. Allergy, 46: 183, 1974.
- 35) James, E. M. V., Jones Williams, W.: Fine structure and histochemistry of epithelioid cells in sarcoidosis, Thorax, 29: 115, 1974.
- 36) Jones Williams, W.: 2nd European Symposium on Sarcoidosis: 10, 1976.

IMMUNOLOGICAL STUDIES ON LYMPHOCYTES IN RESPIRATORY DISEASES

II. Studies on the inhibitory effects of sarcoidosis-serum on sheep red blood cell rosette formation of healthy human lymphocytes

Tetsuji MAYUMI

The Second Department of Medicine, Chest Disease Research Institute, Kyoto University

Test sera were collected from patients of sarcoidosis, pulmonary carcinoma and pulmonary tuberculosis. Inhibitory effects of these sera on sheep-red-blood-cell-rosette-formation (E-rosette and EAC-rosette) of peripheral lymphocytes obtained from healthy humans were studied. Sera of healthy humans were used as the control.

The results are summarized as follows;

- 1) The inhibitory effects on E-rosette formation were found in all sera collected from 5 cases of sarcoidosis and 5 cases of pulmonary tuberculosis. On the other hand, the inhibitory effects of the sera were found in only 3 cases among 5 cases of pulmonary carcinoma.
- 2) The inhibitory effects of those sera on EAC-rosette formation were not clearly demonstrated.
- 3) The inhibitory effects on E-rosette formation were further studied by fractionating the sera of those patients by using ammonium sulfate precipitation method. The precipitate (Fraction P) obtained from sarcoidosis-serum showed apparent inhibitory effects on E-rosette formation, in the 10 mg/dl concentration of protein, although the Fraction P obtained from pulmonary tuberculosis, pulmonary carcinoma and healthy controls showed little or no inhibitory effects in the concentration of protein between 10–500 mg/dl. The supernatant (Fraction S) separated from serum of sarcoidosis, the sera of pulmonary tuberculosis, and the sera of pulmonary carcinoma did not show the inhibitory effect.
- 4) The inhibitory activity of the Fraction P obtained from sarcoidosis-serum was completely

absorbed by anti-IgG-rabbit serum. On the contrary, the inhibitory activity of the Fraction P was not absorbed by anti-IgM-rabbit serum or anti-IgA-rabbit-serum.

5) It is concluded that the inhibitory effects of sarcoidosis-serum on E-rosette formation are caused by a protein(s) which belongs to Immunoglobulin G.