

ハトムギ抽出成分の *in vitro* における抗体産生と mitogen 刺激によって誘導されるリンパ球幼若化反応に及ぼす影響

溝口 靖紘,^{a)} 阪上 吉秀,^{a)} 北村 瑞穂,^{a)} 小林 絢三^{a)}
山本 祐夫,^{b)} 渡辺 恭男,^{c)} 森沢 成司^{d)}

^{a)}大阪市立大学医学部第三内科学教室, ^{b)}大阪社会医療センター
^{c)}第一薬科大学薬化学教室, ^{d)}大阪市立大学医学部第一生化学教室

Effects of extract from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAPF on antibody response and mitogen-induced lymphocyte transformation *in vitro*

Yasuhiro MIZOGUCHI,^{a)} Yoshihide SAKAGAMI,^{a)} Mizuho KITAMURA,^{a)} Kenzo KOBAYASHI,^{a)}
Sukeo YAMAMOTO,^{b)} Yasuo WATANABE^{c)} and Seiji MORISAWA^{d)}

^{a)}The Third Department of Internal Medicine, Osaka City University Medical School

^{b)}The Osaka Socio Medical Center Hospital

^{c)}Department of Pharmaceutical Organic Chemistry, Daiichi College of Pharmaceutical Sciences

^{d)}The First Department of Biochemistry, Osaka City University Medical School

(Received October 7, 1986. Accepted November 26, 1986.)

Abstract

The extract from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAPF significantly accelerated a rise in the background level of anti-sheep red blood cells plaque forming cell(s) (anti-SRBC·PFC) which was induced in human peripheral blood mononuclear cells by stimulation with pokeweed mitogen (PWM). This accelerating effect of the extract was attributable at least partly to the production of interleukin-1 (IL-1) of monocyte-macrophages, because a higher IL-1 activity was detected in the culture supernatant of extract-treated monocyte-macrophages. On the other hand, the extract did not remarkably affect the blastogenic activity of mitogens, such as PHA, PWM or Con A, on human peripheral blood mononuclear cells.

Key words *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAPF, plaque forming cell, lymphocyte transformation

Abbreviations ADCC, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; BCDF, B cell differentiation factor; BCGF, B cell growth factor; Con A, concanavalin A; FCS, fetal calf serum; IL-1, interleukin-1; IL-2, interleukin-2; LAK, lymphokine activating killer; LPS, lipopolysaccharide; PFC, plaque forming cell; PHA, phytohemagglutinin; PWM, pokeweed mitogen; SRBC, sheep red blood cell

*〒545 大阪市阿倍野区旭町 1-5-7
5-7, 1-chome, Asahi-machi, Abeno-ku, Osaka 545,
Japan
本論文の要旨は第3回和漢医薬学会(昭和61年8月)
にて発表した。

緒 言

最近、ハトムギより抽出された成分であるヨクイニンが臨床的に抗腫瘍作用を示すことが報告され¹⁻³⁾また、青年性扁平疣贅、尋常性疣贅などのウィルス性疣贅疾患の治療にも応用され、それらに対する有効性も報告されている。⁴⁻⁷⁾さらに最近、ヨクイニンの有効性と薬理作用が詳細に検討され、抗炎症作用、細胞膜の安定化作用のあることが示されている。⁸⁾

しかし、これらの研究はほとんど抗炎症作用の立場から検討したものであり、ハトムギ抽出成分が免疫応答にどのような影響を与えるかについて検討した研究はみられない。

そこで、著者らは pokeweed mitogen (PWM) 刺激ヒト末梢血単核細胞のポリクローナルな抗体産生と、種々の mitogen 刺激によって誘導されるリンパ球幼若化反応にハトムギ抽出成分がどのような影響を与えるかについて検討した。

材料と方法

(1) ハトムギ抽出成分の調製：ハトムギの抽出方法は Fig. 1 に示す方法に従って抽出した。すなわち種皮ごと粉碎したハトムギ (1 kg) にアセトン (2.5 l) を加え室温で2日間放置し、吸引濾過後、濾液をフラッシュし、アセトン抽出液をえた。これを column chromatography [シリカゲル、展開溶媒 エーテル：石油エーテル (bp 47-60°C) = 3 : 2 (V/V)] にかけ、ハトムギ抽出A成分とした。

上記の抽出後のハトムギ種子に新たにアセトン (2.5 l) を加え、室温抽出したものをハトムギ抽出B成分とした。

さらに、抽出後のハトムギ種子にアセトン (2.5 l) を加え、室温抽出したものをハトムギ抽出C成分とし、抽出後のハトムギ種子にさらにアセトン 2.5 l を加え、抽出したものを column chromatography にかけ、ハトムギ抽出D成分とした。

種々のスペクトルの分析からハトムギ抽出A、D成分は主として飽和脂肪酸からなるトリグリセリド、BとCは主として不飽和脂肪酸からなるトリグリセリドと考えられた。

なお、ハトムギは小太郎漢方製薬株式会社より供与された。

(2) 抗体産生細胞の測定：正常ヒト末梢血をヘパリン添加で採取し、Ficoll-Conray 比重遠心法によって単核細胞を分離した。この細胞を10%ウシ胎

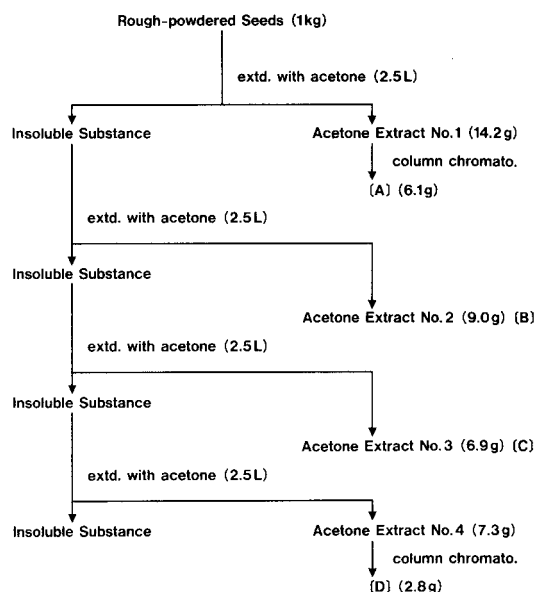


Fig. 1 Extraction and chromatographical separation of the active component from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAFF.

児血清 (FCS) を含む Eagle MEM で洗浄した後、同じ溶液に懸濁して、細胞濃度を 2×10^6 cells/ml となるように調整した。この細胞浮遊液に $50 \mu\text{g/ml}$ の pokeweed mitogen (PWM, P-L Biochemical 社製) と各種濃度のハトムギ抽出物を加え、5日間培養した後再び細胞濃度を 2×10^6 cells/ml となるように調整した。この細胞浮遊液に含まれる抗体産生細胞の数は Jerne らの hemolytic plaque forming cell (PFC) 測定法に準じて測定した。⁹⁾ すなわち、47°C 加温した Eagle MEM に溶解させた 0.5% agar (Difco laboratories 社製) $200 \mu\text{l}$ に、 $25 \mu\text{l}$ の 8% ヒツジ赤血球 (SRBC) 浮遊液、Eagle MEM で $1/10$ に希釈したモルモット血清 (日本生物材料センター製) を補体源として $25 \mu\text{l}$ 、 0.1 mg/ml の抗ヒト IgG または抗ヒト IgM (Cappel laboratories) を $25 \mu\text{l}$ およびヒト単核細胞浮遊液 $200 \mu\text{l}$ を加えて混和し、これをシャーレにまきカバーグラスを用いて薄層を形成し、90分37°C で培養後、溶血斑の数を数えて抗 SRBC 抗体産生細胞数とした。

なお、正常ヒト末梢血リンパ球は個体差があるので同一人に由来したものを使用した。

(3) mitogen 刺激によるリンパ球幼若化の測定：前項のようにして調製したヒト末梢血単核細胞

浮遊液を 1×10^6 cells/ml に調整し、この浮遊液に既報の mitogen 濃度を添加してリンパ球幼若化反応を検討した。¹⁰⁾ すなわちヒト末梢血単核細胞浮遊液に phytohemagglutinin-P (PHA, Difco 社製) $10 \mu\text{g/ml}$, PWM $50 \mu\text{g/ml}$ または Concanavalin A (Con A, Sigma 社製) $10 \mu\text{g/ml}$ を加えて、それぞれ 48 時間、48 時間、72 時間培養した。ついで $1 \mu\text{Ci}$ の ^3H -thymidine (比活性 5 Ci/mmol) を添加してさらに 24 時間培養し、放射活性の酸不溶性分画へのとりこみを液体シンチレーションカウンターで測定した。

(4) interleukin-1 (IL-1) 活性の測定：モルモットの腹腔内に 20 ml の滅菌 marcol 52 (Esso Oil Co.) を注入し、4 日後に腹腔を Hanks 液 200 ml で洗滌して腹腔渗出細胞を採取した。この洗滌液から marcol 52 を除去した後、低温遠心 (2000 rpm , 10 min) によって細胞を集め、Hanks 液で洗浄および遠心を 2 回くりかえして細胞を分離した。ついで、細胞を Eagle MEM で 5×10^6 cells/ml に調整し、マクロファージとして実験に供した。

このマクロファージ細胞浮遊液に各種濃度のハトムギ抽出物を加え、 37°C で 48 時間 CO_2 細胞培養器中で培養した。ハトムギ処理マクロファージ培養上清中に含まれる IL-1 は thymocyte proliferation assay¹¹⁾ により測定した。まず、 $\text{C}_3\text{H}/\text{HeJ}$ マウス胸腺を摘出し、これを歯科用ピンセットを用いて RPMI 1640 中で小切片とした後、針付注射器で 2～3 回静かに出し入れをくり返し細胞浮遊液を作製した。細胞を遠心にて洗浄した後、 $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ の 2-mercaptoethanol (和光純薬製) を含む 5% FCS 加 RPMI 1640 に浮遊し、細胞濃度を 2×10^6 cells/ml に調整した。この細胞浮遊液に種々の割合にハトムギ抽出物処理マクロファージ培養上清を加え、さらに $2 \mu\text{g/ml}$ の PHA を添加して 48 時間培養した後、 $1 \mu\text{Ci/ml}$ の ^3H -thymidine を添加してさらに 24 時間培養した。その後、 ^3H -thymidine の酸不溶性分画へのとりこみを前項と同様にして測定した。

結 果

1. ハトムギ抽出物の抗体産生に及ぼす影響

健康ヒト末梢血単核細胞浮遊液に PWM ($50 \mu\text{g/ml}$) と各種濃度のハトムギ抽出物を加えて細胞濃度を 2×10^6 cells/ml とし、 37°C で 5 日間培養後、SRBC に対する抗体産生細胞数を plaque assay 法⁹⁾ によって測定した。その結果、IgG 産生細胞数

は PWM およびハトムギ抽出物非添加群では 10^6 個 viable cell 当たり 496 ± 58 個 ($n=10$) の PFC が誘導された。次に PWM 添加と同時に、種々の濃度のハトムギ抽出物 C を単核細胞浮遊液に加え、同様にして IgG 産生細胞数の誘導を検討すると、Fig. 2 に示すように、ハトムギ抽出物 C 非添加群 (10^6 個 viable cell 当たり 1582 ± 139 個, $100.0 \pm 8.8\%$) に比して $5 \mu\text{g/ml}$ のハトムギ抽出物 C 添加群では $156.5 \pm 15.8\%$ であった。すなわち、ハトムギ抽出物 C により PWM による polyclonal な抗体産生の誘導は有意に増強された ($n=10$, $p < 0.01$)。

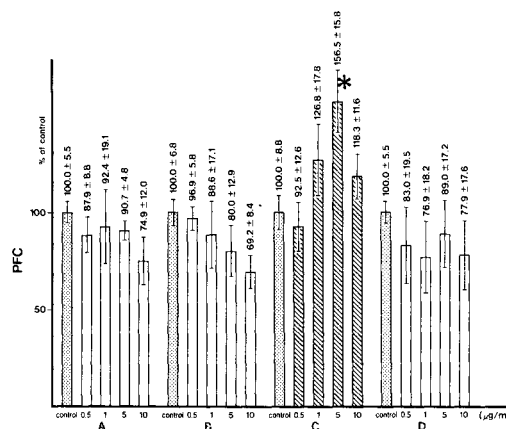


Fig. 2 Effects of extract from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAFF on PWM-induced plaque forming cells (IgG) ($n=10$). * $p < 0.01$

Antibody formation was determined according to the method described in Materials and Methods⁹⁾ PWM concentration is $50 \mu\text{g/ml}$. control : A ; 1582 ± 87 cells/ 10^6 cells, B ; 1582 ± 108 cells/ 10^6 cells, C ; 1582 ± 139 cells/ 10^6 cells, D ; 1582 ± 87 cells/ 10^6 cells

一方、ハトムギ抽出物 A および B は $10 \mu\text{g/ml}$ で多少 PWM による IgG 抗体産生細胞数の誘導を非添加群に比し抑制したが有意差は認められなかった。また、ハトムギ抽出物 D は IgG 抗体産生細胞の誘導にはほとんど影響を与えなかった。

次に IgM 産生細胞数について IgG と同様に検討した。その結果、IgG 抗体産生細胞数と同様にハトムギ抽出物 C は IgM 抗体産生細胞数を増強した ($n=10$, $p < 0.01$)。

しかしハトムギ抽出物 A, B, D は抗体産生細胞数には影響をおよぼさなかった (Fig. 3)。

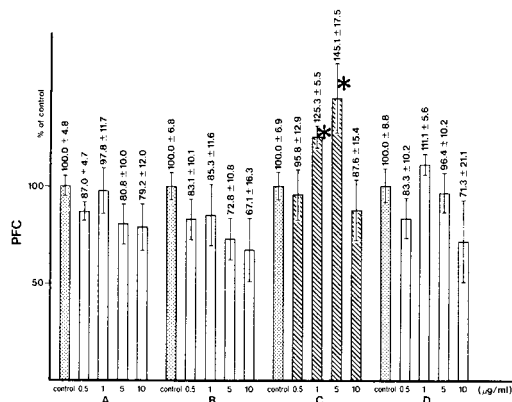


Fig. 3 Effects of extract from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAPF on PWM-induced plaque forming cells (IgM) (n=10). * $p < 0.01$

Antibody formation was determined by the method described in Materials and Methods.⁹⁾ PWM concentration is 50 µg/ml. control : A ; 1862 ± 89 cells/10⁶ cells, B ; 1862 ± 127 cells/10⁶ cells, C ; 1862 ± 128 cells/10⁶ cells, D ; 1862 ± 164 cells/10⁶ cells

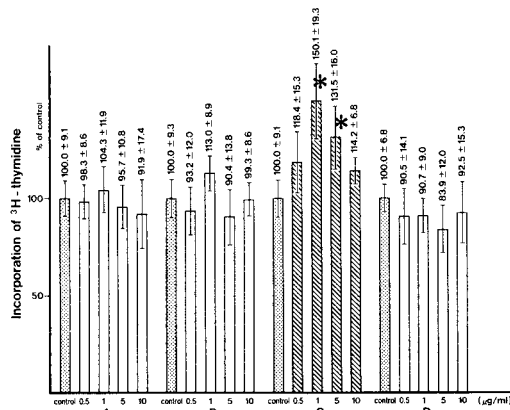


Fig. 4 Effects of culture supernatant of macrophage treated with the extract from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAPF on DNA synthesis in PHA-stimulated thymocytes (n=10). * $p < 0.01$

DNA synthesis was estimated by measuring the uptake of ³H-thymidine in thymocytes. control : A ; 4872 ± 443 cpm, B ; 4872 ± 453 cpm, C ; 4872 ± 443 cpm, D ; 4872 ± 331 cpm

2. ハトムギ抽出物処理マクロファージ培養上清に含まれる IL-1 活性の測定

C₃H/HeJ マウスの胸腺細胞を PHA で刺激する際に同時にハトムギ抽出物処理マクロファージ培養上清を添加して、その培養上清に含まれる IL-1 活性を thymocyte proliferation assay¹¹⁾ で測定した。その結果、PHA 非添加群での胸腺細胞の ³H-thymidine のとりこみは 384 ± 72 cpm であった。次に胸腺細胞浮遊液に 2 µg/ml の PHA とともに 1 または 5 µg/ml のハトムギ抽出物 C で処理したマクロファージ培養上清を 10 % となるように添加すると、PHA のみを添加した対照群 (4872 ± 443 cpm, 100.0 ± 9.1%) に比して 150.1 ± 19.3 % または 131.5 ± 16.0 % となり著明な IL-1 活性の増強が認められた (n=10, $p < 0.01$, Fig. 4)。

一方、ハトムギ抽出物 A, B そして D はマクロファージの IL-1 産生には影響しなかった。

3. mitogen による末梢血単核細胞活性化に及ぼすハトムギ抽出物の影響

各種の mitogen とともに種々濃度のハトムギ抽出物を健常ヒト末梢血単核細胞浮遊液に添加して、リンパ球活性化に及ぼす影響を ³H-thymidine のとりこみを指標として検討した。

まず、mitogen 非添加でハトムギ抽出物単独での単核細胞におよぼす影響について検討した。その結果、mitogen 非添加での単核細胞の ³H-thymidine のとりこみは 872 ± 64 cpm であった。しかし、ハトムギ抽出物 A, B, C または D を単独で単核細胞に添加しても影響はほとんどなかった (Fig. 5)。

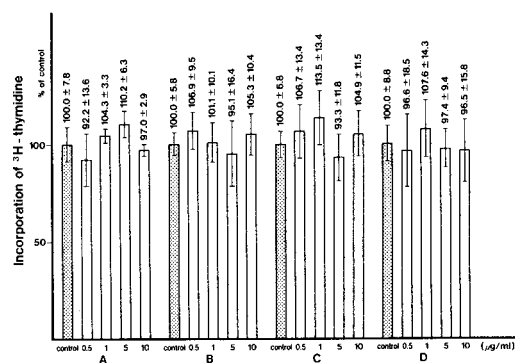


Fig. 5 Effects of extract from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAPF on lymphocyte transformation (n=5).

Blastogenesis was estimated by measuring the uptake of ³H-thymidine in cells. control : A ; 872 ± 68 cpm, B ; 872 ± 51 cpm, C ; 872 ± 59 cpm, D ; 872 ± 77 cpm

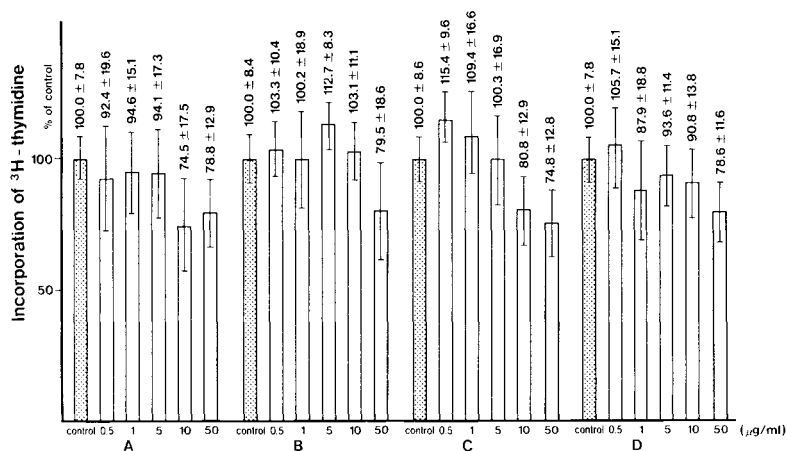


Fig. 6 Effects of the extract from seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAPF on PHA-stimulated mononuclear cells (n=10).

Blastogenesis was estimated by measuring the uptake of ³H-thymidine in cells.

control : A ; 10464 ± 816 cpm, B ; 10464 ± 879 cpm, C ; 10464 ± 900 cpm, D ; 10464 ± 816 cpm

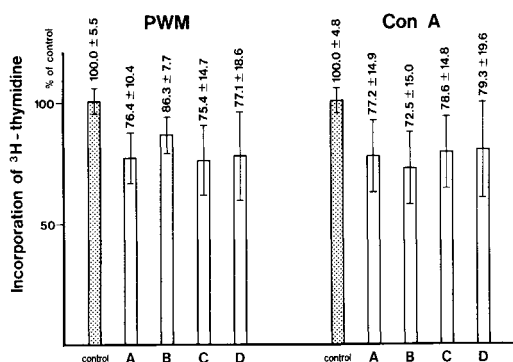


Fig. 7 Effects of the extract from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAPF on PWM- or Con A-stimulated mononuclear cells (n=10).

Blastogenesis was estimated by measuring the uptake of ³H-thymidine in cells. PWM concentration is 50 µg/ml. Con A concentration is 10 µg/ml. Concentration of the extract from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (ROMAN.) STAPF is 5 µg/ml. control : PWM ; 7684 ± 422 cpm, Con A ; 8997 ± 431 cpm

次に PHA とともにハトムギ抽出物を添加し単核細胞におよぼす影響について検討した。その結果、Fig. 6 に示すようにハトムギ抽出物 A, B, C および D の 10 µg/ml 以下の濃度では非添加群に比して ³H-thymidine のとりこみにはほとんど影響はなかった。しかし、ハトムギ抽出物 A, B, C および D の 50 µg/ml を添加すると非添加群に比して ³H-thymidine のとりこみは低下傾向を示したが有意差はなかった。

同様の結果は PWM および Con A 添加の場合でも認められ、Fig. 7 に示すようにハトムギ抽出物 A, B, C および D を 50 µg/ml の濃度を添加すると非添加群に比して低下傾向を示したが有意差はなかった。

考 察

ハトムギより脱穀して得られたヨクイニンは臨床的に抗腫瘍作用¹⁻³⁾の他、青年性扁平疣贅、尋常性疣贅などのウィルス性疣贅疾患に、その有効性が報告され、⁴⁻⁷⁾かつ最近新たにその臨床効果の治験が皮膚科領域で行なわれている。

一方、ヨクイニンの抗炎症薬理作用としては、好中球の産生する活性酸素を抑制し、好中球、リンパ球の細胞膜の methyltransferase, phospholipase

A₂ 活性, prostaglandin E₂ 分泌を抑制することが示唆されている。⁸⁾ このようにヨクイニンには抗炎症作用を示すため、ヨクイニンが免疫に関与する可能性は十分に考えられる。そこで著者らは免疫応答にどのような影響をおよぼすかについて検討した。今回はヨクイニンを含むハトムギ種子の抽出成分を4つの分画にわけ解析した。

その結果、本研究で示したように、ハトムギ抽出成分は抗体産生実験のモデルとして頻繁に用いられているPWMによるポリクローナルな抗体の産生を有意に増強することが示唆された。このことはハトムギ抽出成分が体液性免疫を増強する可能性があることを示した。そこで、ハトムギ抽出成分の抗体産生増強作用の機構を検討するため、著者らはハトムギ抽出成分で処理したマクロファージの培養上清の抗体産生細胞に及ぼす影響を検討し、培養上清中に含まれるIL-1活性を測定した。その結果、ハトムギ抽出成分処理マクロファージ培養上清中に有意に高いIL-1活性を検出した。このことはハトムギ抽出成分が単球—マクロファージ系細胞に作用して、IL-1の産生増強を介して抗体産生を増強することを示唆するものである。

一般に、マクロファージや単球をlipopolysaccharide (LPS) で刺激するとIL-1が分泌されることが知られている。^{12,13)} このIL-1は動物種を越えてT細胞に作用し、interleukin-2 (IL-2) の産生を誘導する。¹⁴⁻¹⁶⁾ また、IL-1はT細胞からのB cell growth factor (BCGF) やB cell differentiation factor (BCDF) の産生をも増強すると推測されている。¹⁷⁾ PWMはT細胞依存性にB細胞を活性化するが、Rosenberg¹⁸⁾ はこのT細胞およびB細胞の活性化にIL-1が関与することを示した。

一方、PHA, PWMまたはCon A等のmitogen刺激によって誘導されるリンパ球幼若化反応にハトムギ抽出成分がどのような影響を与えるかについて検討した。その結果、ハトムギ抽出成分はmitogen刺激によるリンパ球幼若化反応の誘導にはあまり影響を与えなかった。この場合、ハトムギ抽出物Cにより単球—マクロファージ系細胞からのIL-1活性が増強されるにもかかわらず、mitogen刺激リンパ球幼若化反応に著明な影響を与えなかった理由については不明である。既報のごとく柴胡では単球—マクロファージ系細胞に作用して、IL-1活性を増強し、体液性免疫を増強させる。一方、単球—マクロファージ系細胞に作用して、プロスタグランディンの産生を増強し、細胞性免疫を抑制させる。ハトムギ抽出物の場合も高濃度ではmitogen刺激による

リンパ球幼若化反応は低下傾向を示したが有意差は示さなかった。今後は抗体産生細胞, mitogen刺激リンパ球幼若化反応以外にIL-1以外のモノカイン、リンホカイン等の検討も必要と考える。と同時にsuppressor T細胞にも作用している可能性があるため、リンパ球のサブセットについて検討する予定である。

なお、今回検討したmitogenの濃度はPHAは10 µg/ml, PWM 50 µg/mlおよびCon A 10 µg/mlの1種類だけであるが、濃度に関しては既に柴胡剤、小柴胡湯、大柴胡湯でこの濃度を用いて検討済みであるからである。¹⁰⁾

しかし、ハトムギ抽出成分については有効成分が不明であるので、今後、有効成分の同定について検討しなければならない。

いずれにしても、ハトムギ抽出成分が免疫系、とくに抗体産生系に関与することは、治療をも含めて、新しい知見を与えたものと思う。

結 論

ハトムギ抽出成分は単球—マクロファージ系細胞に作用して、インターロイキン-1の産生増強を介して抗体産生細胞を増強することが示唆された。一方、mitogenによるリンパ球幼若化反応には著明な影響を与えなかった。

文 献

- 1) 岩波黄葵: 3'-Me-DAB 胆管癌ラットにおよぼすハトムギの影響について、大阪医大誌 **31**, 145-161, 1972
- 2) Tanimura, A.: Studies on anti-tumor component in the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *Ma-yuen* (ROMAN.) STAFF II. The structure of coixenolide. *Chem. Pharm. Bull.* **9**, 47-53, 1961
- 3) Ito, H., Kasama, K., Naruse, S. and Shimura, K.: Antitumor effect of palmitoleic acid on Ehrlich ascites tumor. *Cancer Letters* **17**, 197-203, 1982
- 4) 大西泰二, 定方恭一, 滝口都三, 秋田 昭: 青年性扁平疣贅および尋常性疣贅にたいするヨクイニンエキスの効果, 漢方研究 **11**月号, 398-401, 1963
- 5) 平野京子, 安田和正, 降矢 榮, 堀川博明: ハトムギのウィルス性疣贅に対する実験的臨床的研究 (第4報) —ハトムギ細胞障害性物質の分離—, 西日皮膚 **46**, 922-926, 1984
- 6) 安田和正: ハトムギのウィルス性疣贅に対する実験的臨床的研究 (第一報) —ハトムギ熱水抽出エキスの細胞傷害作用—, 西日皮膚 **45**, 203-209, 1983
- 7) 西田和正, 鈴木久美子, 平野京子, 堀川博明, 降矢 榮: ハトムギのvirus性疣贅に対する実験的臨床的研究

- (第2報) —ハトムギ細胞障害活性物質の生化学的分析—, 東女医大誌 **53**, 127-131, 1983
- 8) 丹羽靱負, 宮地良樹, 今村卓夫, 河村基郎, 朝田康夫: ヨクイニンの薬理作用機序の検討—活性酸素及び白血球細胞膜リン脂質酵素活性に及ぼす影響, 皮膚科紀要 **81**, 321-331, 1986
- 9) Jerne, N. K. and Nordin, A. A.: Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. *Science* **140**, 405, 1963
- 10) 溝口靖紘, 筒井ひろ子, 山本祐夫, 森沢成司: 柴胡の *in vitro* における抗体産生と mitogen 刺激によって誘導されるリンパ球幼若化に及ぼす影響, 和漢医薬学会誌 **2**, 330-336, 1985
- 11) Simon, P. L. and Willoughby, W. F.: The role of subcellular factors in pulmonary immune function: Species of lymphocyte-activating factor produced by rabbit alveolar macrophages. *J. Immunol.* **126**, 1534-1541, 1981
- 12) Unanue, E. R.: The regulation of lymphocyte functions by macrophage. *Immunol. Rev.* **40**, 227-255, 1978
- 13) Mizel, S. B. and Ben-Zvi, A.: Studies on the role of lymphocyte-activating factor (Interleukin 1) in antigen-induced lymphocyte proliferation. *Cell Immunol.* **54**, 382-389, 1980
- 14) Calderon, J., Kiely, J. M., Lefko, J. L. and Unanue, E. R.: The modulation of lymphocyte function by molecules secreted by macrophages. I. Description and partial biochemical analysis. *J. Exp. Med.* **142**, 151-164, 1975
- 15) Farrar, J. J., Koopman, W. J. and Fuller-Bonar, J.: Identification and partial purification of two synergistically acting helper mediators in human mixed lymphocyte culture supernatant. *J. Immunol.* **119**, 47-54, 1977
- 16) Koopman, W. J., Farrar, J. J. and Fuller-Bonar, J.: Evidence for the identification of lymphocyte activating factor as the adherent cell-derived mediator responsible for enhanced antibody synthesis by nude mouse spleen cells. *Cell Immunol.* **35**, 92-98, 1978
- 17) 中野昌康: インターロイキンを介しての細胞間相互作用, 臨床免疫 **15**, 129-136, 1983
- 18) Rosenberg, S. A. and Liposky, F. E.: The role monocytes in pokeweed mitogen-stimulated human B cell activation: Separate requirements for intact monocytes and a soluble monocyte factor. *J. Immunol.* **126**, 1341-1345, 1981