ヒト T細胞株 KOPT-5 からの IL-2 活性産生の誘導

鈴木 敏雄・中澤 眞平^{1*}・森 泰二郎
木下 明俊・岡崎 敏子^{2*}・清 藤 勉^{3*}

Jpn. J. Clin. Immun., 16 (5) : 338~346, 1993.

Induction of IL-2 activity production in human T cell line, KOPT-5

Toshio Suzuki, Shinpei Nakazawa^{1*}, Taijiro Mori,
Akitoshi Kinoshita, Toshiko Okazaki^{2*} and Tsutomu Seido^{3*}

Department of Pediatrics, School of Medicine Keio University

^{1*}*Department of Pediatrics, Yamanashi Medical College*

^{2*}*Immunology Research Laboratory, Saitama Central Hospital of Social Insurance*

^{3*}*Immuno-Biological Laboratories Co., Ltd.*

【Summary】

A human leukemic cell line, KOPT-5, was established from peripheral blood mononuclear cells of a 13 year-old boy with T cell acute lymphocytic leukemia. KOPT-5 has T cell phenotype of CD 1(-), CD 2 (+), CD 3 (+), CD 4 (-), CD 5 (+), CD 7 (+), CD 8 (-). IL-2 activity in the culture supernatant of KOPT-5 was examined. KOPT-5 produces no IL-2 activity constitutionally, but produces IL-2 activity when co-cultured with both phytohemagglutinin (PHA) and macrophage-like differentiated human promyelocytic leukemia cell line HL-60. This differentiation of HL-60 have been induced by phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA). KOPT-5 produces no IL-2 activity when co-cultured with macrophage-like differentiated HL-60 only, or with both PHA and non-differentiated HL-60, and KOPT-5 produces lower level of IL-2 activity when stimulated with both PHA and PMA, but produces no IL-2 activity when stimulated with both PHA and IL-1. The T cell line, KOPT-5 will provide a useful model for elucidating the mechanism of the accessory function of macrophage in mitogen-induced T cell differentiation.

Key words : cell line,
IL-2,
T cell differentiation,
accessory function,
cytokine

【概 要】

T細胞型急性リンパ性白血病患者末梢血からT細胞株 KOPT-5 を樹立し、その IL-2 活性産生能を検討した。KOPT-5 は、CD 1 (－), CD 2 (+), CD 3 (+), CD 4 (－), CD 5 (+), CD 7 (+), CD 8 (－) で、PMA によりマクロファージ様に分化させた HL-60 と PHA 存在下に混合培養すると IL-2 活性を産生した。KOPT-5 による IL-2 活性の産生は、マクロファージ様に分化させた HL-60 との混合培養のみでは得られず、また、分化させない HL-60 と PHA 存在下に混合培養しても得られなかった。KOPT-5 を PMA と PHA とで同時に刺激すると、少量の IL-2 活性の産生が認められたが、PHA と IL-1 による同時刺激では IL-2 活性の産生は全く認められなかった。T細胞の活性化にかかわる種々の因子、特にマクロファージの影響を解析するうえで、KOPT-5 は有用なモデルになると考えられる。

I. 緒 言

免疫応答に大きく関与しているT細胞の活性化には種々の因子の影響が推測されている。中でもマクロファージはT細胞の活性化の初期に関与すると考えられており、*in vitro* でT細胞の活性化を検討する際にその存在が必要とされる。したがって、末梢血からTリンパ球を分離してこのような因子の影響を検討する場合には、リンパ球分画へのマクロファージの混入が問題とされる。一方、白血病から樹立されたT細胞株は、異常細胞ではあるが、その monoclonality から、他細胞の混入を問題とせずにT細胞独自の分化、活性化の機構を知るうえで、貴重なモデルを提供する可能性が考えられる。

今回われわれは、14歳のT細胞型急性リンパ性白血病患者末梢血から樹立されたT細胞株 KOPT-5 において、IL-2 活性の産生が誘導されたため、その条件を検討した。

II. 方 法

1. 症例 (D.S.)

1981年12歳時に貧血と脾腫を主訴に入院した。縦隔腫瘍は認められなかったが、末梢血 WBC 276,000/ μ l, 芽球 94.5%, peroxidase (－) で、骨髓穿刺結果および末梢血単核球膜抗原の解析上、Eロゼット陽性、T細胞系抗原陽性(表1)からT細胞型急性リンパ性白血病(T-ALL)と診断した。vincristine,

prednisolone, L-asparaginase により完全寛解に入ったが、8ヵ月後に骨髓再発をきたした。再発後は各種化学療法に抵抗性で、全経過13ヵ月で死亡した。

2. 培養方法

再発時の末梢血(WBC 235,000/ μ l, 芽球 97.5%)から単核球細胞をHypaque-Ficoll法により分離し、

表 1 Cell surface marker analysis

1) Rosette formation (Microtest plate method)			
En	:	98.4%	
EA	:	59.3%	
EAC	:	3.7%	
2) Surface immunoglobulins (Direct IF method)			
Anti-IgA	0%	Anti- κ	4.2%
Anti-IgG	14.6%	Anti- λ	1.8%
Anti-IgM	27.8%		
3) Cell surface antigens (Indirect IF method)			
a) Polyclonal antibody			
Anti-T (Anti-MOLT 4)			95.4%
Anti-T (Anti-KOPT-K 1)			93.6%
Anti-B (Ia-like)			11.0%
Anti-CALLA (Anti-KOPN-K)			10.0%
Anti-Myeloid (Anti-HL 60)			6.1%
b) Monoclonal antibody			
KOR-Ia 17 (HLA-DR)			3.2%
KOR-N 34 (CD 10)			0%

IF ; Immunofluorescence

KOPN-K ; common ALL cell line⁴⁾

20% FCS 添加 RPMI 1640 培養液を用いて閉鎖系で培養を開始した。当初、細胞増殖は著しく軽微であったが、徐々に散在性の増殖が増し、14 ヶ月後 (1983 年 9 月) に継代可能となった。

3. 細胞株

KOPT-5 の由来は、前述のとおりである。KOPT-K 1 は、リンパ肉腫患者の白血病化時の末梢血から、1979 年に当研究室で樹立された T 細胞型リンパ性白血病細胞株である¹⁾。

KOPM-30 は、Ph₁ 陽性 biphenotypic leukemia の再発時末梢血から、1985 年に当研究室で樹立された Ph₁ 陽性 myeloid cell line である²⁾。本細胞株は、Peroxidase (+), Naphthol ASD chroloacetate esterase (+), α -Naphthyl butyrate esterase (+) である。以上の 3 種類の当研究室で樹立された細胞株の表面マーカーを、各種のモノクローナル抗体と抗マウス免疫グロブリン結合ウシ赤血球を用いたロゼット形成法³⁾により解析した結果を表 2 に示す。

この他、急性前骨髄球性白血病由来株 HL-60 および急性骨髄性白血病由来株 KG-1 を用いた。

これらの細胞株は、ウシ胎仔血清を 10% 含有した RPMI 1640 培養液 (GIBCO, USA) で維持継代されている。

4. 試薬

Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA, LCS, USA), phytohemagglutinin - p (PHA - P, Difco, USA), concanavalin A (Con A, Sigma, USA) を用いた。また IL-1 として Ultrapure IL-1 (GUPI-1, Genzyme, USA) を用いた。

5. KOPT-5 からの IL-2 活性産生の誘導

HL-60 5×10^5 cells を 100 ng/ml PMA 存在下に 1% FCS 含有 RPMI 1640 medium 0.5 ml 中で 5.0% CO₂, 37°C 下に 48 時間培養した。培養は 24 穴の flat microculture plate (NUNC, Nunc, Denmark) 上でを行い、この操作により HL-60 はマクロファージ様に分化して⁴⁾well の底面に付着した。培養後吸引により上清を捨て、そこに 1×10^6 cells の KOPT-5 cell suspension を静かに重層した。両細胞の混合培養を 0.1% PHA - P 存在下に 1% FCS 含有 RPMI 1640 medium 1.0 ml 中で 5.0% CO₂, 37°C 下に 48 時間行い、上清を採取し、IL-2 活性測定まで 4°C に保存し

表 2 Cell surface marker analysis

	KOPT-5	KOPT-K 1	KOPM-30
CD 1 (T 6)	(-)	77.1%	(-)
CD 2 (T 11)	35.8%	100.0%	(-)
CD 3 (T 3)	87.5%	(-)	(-)
CD 4 (T 4)	(-)	98.5%	89.0%
CD 5 (T 1)	80.4%	99.0%	(-)
CD 7 (Tp 40)	29.4%	95.5%	(-)
CD 8 (T 8)	(-)	54.3%	(-)
CD 25 (IL-2 R 1)	(-)	13.2%	(-)
α/β TCR (TCR-1)	(-)	n.d.	n.d.
β TCR (β F 1)	(-)	n.d.	n.d.
γ/δ TCR (Anti-TCR- γ/δ -1)	(-)	n.d.	n.d.
CD 10 (J 5)	(-)	(-)	(-)
CD 19 (B 4)	(-)	(-)	(-)
CD 20 (B 1)	(-)	(-)	(-)
HLA-DR (I 2)	(-)	(-)	100.0%
CD 13 (My 7)	(-)	(-)	44.3%
CD 14 (My 4)	(-)	(-)	(-)
CD 33 (My 9)	(-)	(-)	50.0%
CDw 41 (Tp 80)	(-)	(-)	(-)

n.d.; not determined

た。

6. IL-2 活性の測定

IL-2 依存性細胞株 CTLL-2 を初濃度 5×10^4 /ml で上清の存在下に培養し、その増殖を 48 時間後あるいは 72 時間後の細胞カウントにより測り検討した。なお、IL-2 活性の positive control として、rat 脾細胞 Con A 刺激培養上清を用いた。この上清は、低張液処理法により赤血球を除去した Wister 系 rat の脾細胞を、 $5 \mu\text{g/ml}$ Con A, 2.5×10^{-5} mol/l 2 ME 含有 10% FCS-RPMI 1640 medium で 2.5×10^6 /ml の濃度に調整し、5.0% CO₂, 37°C incubator 内で 45 時間培養することにより作製された。

III. 結 果

1. HL-60 との混合培養による KOPT-5 からの IL-2 活性産生の誘導

方法の項で述べたように、HL-60 を PMA 存在下に培養した後、KOPT-5 と PHA-P 存在下に混合培養すると、有意の IL-2 活性が産生された (図 1)。その産生は KOPT-5 の細胞数に依存し、 2×10^6 cells/well 以上で安定した IL-2 活性の産生が認めら

図1 培養上清中のIL-2活性とKOPT-5細胞濃度との関係

●—●; PMAによりマクロファージ様に分化させたHL-60 $2^{-1} \times 10^6$ cellsを、濃度の異なるKOPT-5 (2×10^6 , $2^{-1} \times 10^6$, $2^{-3} \times 10^6$, $2^{-7} \times 10^6$, 0 cells/well) と、0.1% PHA-P存在下に48時間混合培養して得た上清のIL-2活性
○-----○; positive control

れた。

KOPT-5を 1×10^6 cells/well に定めてHL-60の濃度を種々に変化させたところ、安定したIL-2活性の産生は、HL-60が $2^{-2} \times 10^6$ cells/well 以上において認められた(図2)。以上より、以後の実験はHL-60を $2^{-1} \times 10^6$ cells/well, KOPT-5を 1×10^6 cells/well として行った。

HL-60をPMAで刺激した後、KOPT-5以外の細胞株(KOPT-K1, KG-1)とPHA存在下で混合培養し、IL-2活性の産生を検討したが、有意の産生は得られなかった。また、HL-60をPMAで刺激した後、KOPT-5とPHA非存在下で混合培養するとIL-2活性の産生は認められなくなった(図3)。

次に、HL-60をPMAで刺激することなく、そのままKOPT-5と混合培養してIL-2活性の産生を検討したが、産生は得られなかった(図4)。

図2 培養上清中のIL-2活性とHL-60細胞濃度との関係

●—●; HL-60細胞濃度を5段階(1×10^6 , $2^{-2} \times 10^6$, $2^{-4} \times 10^6$, $2^{-6} \times 10^6$, $2^{-8} \times 10^6$ cells/well) に設定し、その各々を100 ng/ml PMA存在下に48時間培養後、 1×10^6 cellsのKOPT-5と0.1% PHA-P存在下に48時間混合培養を行って得た上清のIL-2活性
○-----○; positive control

2. KOPT-30との混合培養によるKOPT-5からのIL-2活性産生の誘導

HL-60の代わりにヒト急性白血病由来で単球性の形質を示す細胞株KOPT-30を用い、これをPMA存在下で培養した後、KOPT-5とPHA存在下で混合培養を試みた。この系においても、HL-60の系に比較して弱いものの、IL-2活性の産生が誘導された(図5)。このとき、KOPT-5の代わりにKOPT-K1を用い、KOPT-30とKOPT-K1の組合せで同様の実験を行ったが、有意のIL-2活性は産生されなかった。

3. PMAとPHAの同時刺激によるKOPT-5からのIL-2活性産生の誘導

HL-60を用いず、KOPT-5をPMAとPHAとで同時に刺激することでIL-2活性の産生が誘導されるかを検討した。PHA-Pを0.1%の濃度で、PMAの

図 3 HL-60 との混合培養による各種細胞株からの IL-2 活性産生の誘導および KOPT-5 からの IL-2 活性産生誘導における PHA の必要性

- ; PMA によりマクロファージ様に分化させた HL-60 を, 種々の細胞株 1×10^6 cells と 0.1% PHA-P 存在下に 48 時間混合培養して得た上清の IL-2 活性
- ; PMA によりマクロファージ様に分化させた HL-60 を, 1×10^6 cells の KOPT-5 と, PHA-P 非存在下に 48 時間混合培養して得た上清の IL-2 活性
- ; positive control

濃度は 100, 10, 1 ng/ml の 3 点に設定した。PMA 100 ng/ml, 10 ng/ml では軽度の IL-2 活性が産生されたが, HL-60 との混合培養で得られるほどの IL-2 活性は産生されなかった (図 6)。

4. IL-1 と PHA の同時刺激による KOPT-5 からの IL-2 活性の誘導

HL-60 も PMA も用いず, その代わりに IL-1 を使って PHA とともに刺激することで, KOPT-5 から IL-2 活性が産生されるかを検討した。IL-1 は GUPI-1 を用い, 濃度は 10, 3.3, 1.1, 0.4 u/ml の 4 点を設定したが, IL-1 と PHA の組合せでは IL-2 活性の

図 4 KOPT-5 からの IL-2 活性産生誘導における HL-60 前処理の必要性

- ; HL-60 を PMA で分化させた後, 1×10^6 cells の KOPT-5 と, 0.1% PHA-P 存在下に混合培養して得た上清の IL-2 活性
- ; HL-60 を PMA で処理することなく, そのまま 1×10^6 cells の KOPT-5 と, 0.1% PHA-P 存在下に混合培養して得た上清の IL-2 活性
- ; positive control

産生は全く得られなかった (図 7)。

IV. 考 按

HL-60 を 100 ng/ml の PMA で刺激した後, KOPT-5 と 0.1% PHA-P 存在下で混合培養して IL-2 活性の産生を得るという系に関する基礎実験成績をまとめると図 8 のようになる。図 8 は, KOPT-5 から IL-2 活性を得るのに必要な要素を種々に組み合わせて得た培養上清中の IL-2 活性を比較している。HL-60 と KOPT-5 との混合培養の系では, PMA による HL-60 の刺激と PHA の存在のどちらか 1 つが欠如しても IL-2 活性の産生は得られず, この両者の存在が必要であることが示唆される。

マイトジェンのみでは IL-2 を産生せず, さらに何らかの刺激を加えて初めて IL-2 産生能を獲得する細

図5 KOPM-30との混合培養によるKOPT-5からのIL-2活性産生の誘導

●—● ; KOPT-5+HL-60 ;
HL-60をPMAで前処理後,
 1×10^6 cellsのKOPT-5と,
0.1% PHA-P存在下に混合培
養して得た上清のIL-2活性
●—● ; KOPT-5+KOPM-30 ;
KOPM-30をPMAで前処理
後, 1×10^6 cellsのKOPT-5
と, 0.1% PHA-P存在下に混
合培養して得た上清のIL-2活
性
●—● ; KOPT-K1+KOPM-30 ;
KOPM-30をPMAで前処理
後, 1×10^6 cellsのKOPT-K1
と, 0.1% PHA-P存在下に混
合培養して得た上清のIL-2活
性
○-----○ ; positive control

胞株の報告は、これまでも認められる。Gillisらは、マウスリンパ腫由来細胞株LBRM-33をクローニングし、マイトジェンとともにIL-1を加えると初めてIL-2を産生するsubclone 1A5を得たと報告している⁶⁾。ヒトでは、Kasaharaらが、ヒトT細胞型急性白血病由来株CCRF-HSB-2をクローニングして得たsubcloneがPHA+IL-1の刺激でIL-2を産生

図6 PMAとPHAによるKOPT-5からのIL-2活性産生の誘導

●—● ; HL-60をPMAで前処理後, 1×10^6 cellsのKOPT-5と, 0.1% PHA-P存在下に48時間混合培養して得た上清のIL-2活性
●-----● ; 1×10^6 cellsのKOPT-5を, 0.1% PHA-Pと各種濃度のPMA存在下に48時間培養して得た上清のIL-2活性
○-----○ ; positive control

したと報告している⁷⁾。混合培養を用いたものでは、RockがマウスT cell hybridoma RF 1.16 Bという細胞株を報告している。この細胞株は、Con AのみではIL-2を産生せず、Con AとともにT cell depleted accessory cellを加えるとIL-2を産生するという性質を有しており、このaccessory cellの作用はIL-1によって代用できるとしている⁸⁾。マイトジェンにさらにIL-1という刺激を加えることが、これらの細胞株からのIL-2産生の鍵を握っていることから、本実験系においても、PMAにより活性化されたHL-60がIL-1を産生してそれがPHAとともにKOPT-5を活性化している可能性が考えられる。しかし、図7に示す実験成績から、PHA+IL-1の刺激ではKOPT-5からIL-2活性は産生されず、HL-60とKOPT-5

図 7 IL-1 と PHA による KOPT-5 からの IL-2 活性産生の誘導

- : HL-60 を PMA で前処理後, 1×10^6 cells の KOPT-5 と, 0.1% PHA-P 存在下に 48 時間混合培養して得た上清の IL-2 活性
- : 1×10^6 cells の KOPT-5 を, 0.1% PHA-P と各種濃度 (図中 ① 10.0, ② 3.3, ③ 1.1, ④ 0.4 u/ml) の IL-1 存在下に 48 時間培養して得た上清の IL-2 活性
- : positive control

との間には IL-1 以外の因子の関与の可能性が考えられる。

マイトジェンによる T 細胞の活性化にマクロファージなどの accessory cell が必要とされることはよく知られている⁹⁾。この accessory function は同種異系のマクロファージで代用でき¹⁰⁾, accessory cell は分裂する必要はないが, 生きていないと機能しないとされている¹¹⁾。近年, Koretzky らは, マクロファージを除去したヒト末梢血単核細胞をレクチンで刺激する系においては, PMA あるいは IL-1 がマクロファージ機能を代行できると報告している¹²⁾。本実験系においても, HL-60 と PMA との培養の後, 上清は捨てるものの PMA が残存していて, それが HL-60 とは関係なく直接に KOPT-5 を刺激して IL-2 活性の産生

図 8 IL-2 production by KOPT-5

図中 CTLL-2 cell count は, CTLL-2 5×10^4 cells/ml を, 各条件下に得られた培養上清 50% 存在下に 72 時間培養した後の CTLL-2 細胞数を示す。

に至っている可能性が考えられる。しかし, 図 6 に示した実験成績から, PMA と PHA との同時刺激では混合培養ほどの IL-2 活性は産生されず, KOPT-5 からの安定した IL-2 活性の誘導には, マクロファージ様に分化した HL-60 の存在が必要と思われる。

Accessory function の機序に関しては, 液性因子を介する系と cell to cell contact を介する系の 2 通りの考え方がとられてきている。液性因子を介する系としては, 活性化マクロファージが産生する cytokine である IL-1 が中心的な役割を担っていると考えられてきた¹³⁾。しかし近年 Koide らは, マウスにおける macrophage-T cell interaction において IL-1 α gene の発現を検討し, レクチンによる resting T cell の刺激ではマクロファージに IL-1 mRNA の発現は認められず, あらかじめ T 細胞を活性化しておくと IL-1 mRNA の発現が認められるようになると報告し¹⁴⁾, また Bhardwaj らは, ヒト APC-T cell interaction において細胞内 IL-1 β の発現を検討し, レクチンなどによる T 細胞活性化の最初の段階に重要なのは, マクロファージなどの accessory cell との cell to

cell contactであり、IL-1ではないと報告している¹⁵⁾。これらから、近年ではT細胞活性化におけるcell to cell contactの重要性が認識されつつあると考えられる。KOPT-5は、レクチン+IL-1の刺激ではIL-2活性を産生せず、レクチンとともにマクロファージ様に分化させたHL-60を加えることでIL-2活性産生能を得ることから、KOPT-5とHL-60の間には、IL-1以外の因子の関与とともにcell to cell contact mechanismの介在も推測される。最近、

CD 2-LFA 3, CD 28-B 7に代表される、cell to cell contactを介して accessory functionに関与する数多くの分子が解明されてきている¹⁶⁾。KOPT-5を用いたこの系は、細胞株のみを使用しているために、正常マクロファージが混入する危険はなく、これらの accessory moleculeの機能との関係、あるいは複雑な accessory functionへのサイトカインの作用などを解明するうえにおいて、シンプルなモデルを提供する可能性が考えられる。

文 献

- 1) 高根恵子・中澤眞平・森泰二郎・他：T-Leukemic cell line (KOPT-K 1~3) の樹立とその性状。第22回日本臨床血液学会総会抄録集, p. 119, 1980.
- 2) 高根恵子・中澤眞平・杉田完爾・他：Ph¹陽性急性白血病由来の Myelo-Monocytoid Cell Line (KOPM-30) の樹立とその性状。第27回日本臨床血液学会総会抄録集, p. 502, 1985.
- 3) 中澤眞平・森泰二郎・西野和良・他：間接ロゼット法による白血病細胞膜抗原の解析。厚生省心身障害研究報告書, 小児慢性疾患の診断・治療・管理に関する研究班, 昭和59年度研究業績 II 小児白血病の治療に関する研究, 133~140.
- 4) 森泰二郎・中澤眞平・高根恵子：白血病細胞株 (KOPN-K) の樹立ならびにその性状。臨床血液, 22(補冊) : 119, 1980.
- 5) Rovera, G., O'Brien, T.G. et al. : Induction of Differentiation in Human Promyelocytic Leukemia Cells by Tumor Promoters. *Science*, 204 : 868~870, 1979.
- 6) Gillis, S., Mizel, S.B. : T-Cell lymphoma model for the analysis of interleukin 1-mediated T-cell activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78 : 1133~1137, 1981.
- 7) Kasahara, T., Mukaida, N. et al. : Interleukin 1-dependent lymphokine production by human leukemic T cell line HSB. 2 subclones. *J. Immunol.*, 134 : 1682~1689, 1985.
- 8) Rock, K.L. : The role of Ia molecules in the activation of T lymphocytes 1. The Activation of an IL 1-Dependent IL 2-Producing T Cell Hybridoma by Con A Requires an Inter-action, Which is Not H-2-Restricted, with an Ia-Bearing Accessory Cell. *J. Immunol.*, 129 : 1360~1366, 1982.
- 9) Rosenstreich, D.L., Mizel, S.B. : The participation of macrophages and macrophage cell lines in the activation of T lymphocytes by mitogens. *Immunol. Rev.*, 40 : 102~135, 1978.
- 10) Levis, W.R., Robbins, J.H. : Effect of glass-adherent cells on the blastogenic response of 'Purified' lymphocytes to phytohemagglutinin. *Exptl Cell Res.*, 61 : 153~158, 1970.
- 11) Habu, S., Raff, M.C. : Accessory cell dependence of lectin-induced proliferation of mouse T lymphocytes. *Eur. J. Immunol.*, 7 : 451~457, 1977.
- 12) Koretzky, G.A., Daniele, R.P. et al. : A phorbol ester (TPA) can replace macrophages in human lymphocyte cultures stimulated with a mitogen but not with an antigen. *J. Immunol.*, 128 : 1776~1780, 1982.
- 13) Durum, S.K., Schmidt, J.A. et al. : Interleukin 1 : An immunological perspective. *Annu. Rev. Immunol.*, 3 : 263~287, 1985.
- 14) Koide, S., Steinman, R.M. : Induction of interleukin 1 α mRNA during the antigen-dependent interaction of sensitized T lymphoblasts with macrophages. *J. Exp. Med.*, 168 : 409~416, 1988.
- 15) Bhardwaj, N., Lau, L.L. et al. : Interleukin 1 production during accessory cell-dependent mitogenesis of T lymphocytes. *J. Exp. Med.*, 169 : 1121~1136, 1989.

- 16) Van Seventer, G.A., Shimizu, Y. et al. : Roles of multiple accessory molecules in T-cell activation. *Curr. Opin. Immunol.*, 3 : 294~303, 1991.
-