同種骨髄キメラマウスにおける抑制細胞

北海道大学医学部内科学第三講座

今村 雅寛, 宮崎 保

はじめに

骨髄移植を施行されたヒト, ラットあるいはマウスに抑制細胞が出現することは広く知られた事実である¹⁻⁴⁾。ここでは, 同種骨髄キメラマウスあるいは同種脾臓/骨髄キメラマウスに出現した抑制細胞の性状と抗原特異性について検討し, host においてこれらの細胞が如何なる役割を果しているかについてGVH (graft-versus-host) 反応との関連性も含めて考察した。

材料と方法

1. マウス

生後4～8週のSPF BALB/c (H-2^d), C3H/He (H-2^k) および C57BL/6 (H-2^b) マウスを用いた。

2. キメラマウスの作成

925～950radの致死線量のX線照射を受けたC3H/He マウスに10⁷個のC3H/He あるいは BALB/C マウスの骨髄細胞を尾静脈より移植した。一部のマウスは, GVHDを強く誘導する目的で5×10⁶個のBALB/c 脾細胞を混ぜて移植した。

3. アロ抗原に対する抑制細胞の検討

BALB/c マウス脾細胞5×10⁵個/well を responder とし BALB/c, C3H/He あるいは C57BL/6 マウス脾細胞5×10⁵個/well に2000radのX線照射を施して stimulator とした。キメラマウス脾細胞1.25×10⁵個/well を混ぜて平底96穴プレート (Costar Cambridge MA, USA) で5日間培養し, ³H-TdR (New England Nuclear, Boston, MA, USA) の incorporation を抑制するか否かを検討した。用いた培養液はRPMI1640で10% FCS (Boehringer Mannheim, FRG), 10mM HEPES, 2mM glutamine, 5×10⁻⁵M 2-mercaptoethanol, 10units/ml penicillin および100μg/ml streptomycin を含む。抑制率は次式により算出した。

$$\text{抑制率(\%)} = \left[1 - \frac{\text{キメラ脾細胞を添加した時の}^3\text{H-TdR incorporation}}{\text{BALB/c 脾細胞を添加した時の}^3\text{H-TdR incorporation}} \right] \times 100$$

4. Cell-mediated lympholysis (CML) の検討

BALB/c マウス脾細胞5×10⁵個/well を responder とし BALB/c, C3H/He あるいは C57BL/6 マウス脾細胞5×10⁵個/well に2000radのX線照射を施し stimulator とした。キメラマウス脾細胞1.25×10⁵個/well を混ぜてU字型96穴プレート (Costar, Cambridge, MA, USA) で5日間培養し, ⁵¹Cr (New England Nuclear, Boston, MA, USA) でラベルした Con A blasts を標的細胞として10⁴個/well 入れ, 4時間後に培養上清を回収し, γ-counter で放射活性を測定した。細胞障害率は次式により算出した。

$$\text{細胞障害率(\%)} = \frac{\text{experimental release} - \text{minimal release}}{\text{maximal release} - \text{minimal release}} \times 100$$

5. キメラ脾細胞の抗体処理

10⁷個のキメラ脾細胞を100倍に稀釈したモノクローナル抗 Thy1.2, 抗 Lyt1.2 あるいは抗 Lyt2.2 抗体 (いずれも New England Nuclear より購入) で室温で30分間処理後, 15倍に稀釈したウサギ補体 (Cappel Lab., Cochranville, PA, USA) で37°C で30分間処理した。モノクローナル抗 L3T4 抗体 (Sera-lab, Crawley Down, Sussex, England) は100倍に稀釈した後上記と同様にして用いた。

6. mitogen 反応に対する抑制細胞の検討

5×10⁵個/well の BALB/c あるいは C3H/He 脾細胞を responder とし, 5μg/ml の Con A (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden), 10μg/ml の PHA (Wellcome Research Lab., Beckenham, England), 10μg/ml の LPS (Sigma Chemical Co., MO, USA) あるいは10μg/ml の PWM (Sigma Chemical Co. MO, USA) を添加し, キメラ脾細胞1.25×10⁵個/well を入れて2日間培養した時, 対照群に比し

Table 1 Suppressor cells against alloreactive MLRs in the spleen of chimeras

Responder	Stimulator	Co-culture cells ^a	% suppression
BALB/c	C3H/He	(BALB/c → C3H/He)	89
		(BALB/c → C3H/He) _x ^b	43
BALB/c	C57BL/6	(BALB/c → C3H/He)	65
		(BALB/c → C3H/He) _x	8

^a Spleen cells from chimeras were obtained at 72 days after BMT.

^b Spleen cells were irradiated (2000 rad) .

Table 2 Suppressor cells sensitive or insensitive to treatment with anti-Thy 1 antibody plus complement

Responder	Stimulator	Co-culture cells ^a	Treatment of co-culture cells	% suppression
BAL/c	C3H/He	(BALB/c → C3H/He)	RC	74
			Anti-Thy 1+RC	61
BALB/c	C57BL/6	(BALB/c → C3H/He)	RC	49
			Anti-Thy 1+RC	33

^a Spleen cells from chimeras were obtained at 58 days after BMT.

て³H- T dR incorporation の抑制が認められるか否か検討した。抑制率は次式により算出した。

抑制率(%) =
$$\left[1 - \frac{\text{同種骨髓キメラ脾細胞添加時の}^3\text{H-TdR incorporation}}{\text{同系骨髓キメラ脾細胞添加時の}^3\text{H-TdR incorporation}} \right] \times 100$$

7. CFU-GM の検討

10⁵個の骨髓細胞を1ml のIscove's modified Dulvecco's medium と20% FCS, 10% PWM 刺激マウス脾細胞培養上清および0.3%寒天の存在下で10日間培養し, 40個以上の細胞集団をCFU-GM として算定した。

結 果

1. アロ抗原特異的およびアロ抗原非特異的抑制細胞

表 1 にみられるように, (BALB/c → C3H/He)キメラ脾細胞は, BALB/c anti C3H/He MLR を89%抑制した。2000rad のX線照射により, 43%まで活性

が低下した。BALB/c anti C57BL/6 MLR は65%まで抑制され, 2000rad のX線照射に対して感受性が高く8%まで抑制活性が減弱した。BALB/c anti C3H/He MLR を抑制するのはアロ抗原特異的抑制細胞と考えられ, BALB/c anti C57BL/6MLR を抑制するのはアロ抗原非特異的抑制細胞と考えられる。抑制活性は, 混ぜるキメラ脾細胞量を減ずると低下し, 量依存性を認めた(成積省略)。

2. 抑制T細胞および抑制非 T 細胞

モノクローナル抗 Thy1.2抗体と補体処理によって, BALB/c anti C3H/He MLR に対する抑制活性および BALB/c anti C57BL/6MLR に対する抑制活性は部分的に減弱した(表 2)。このことは, 抑制細胞はT細胞と非T細胞の両者から成り立っていることを示唆している。

抑制非T細胞はCarrageenan 処理によって活性が減弱することにより, macrophage より成ることが示唆されている(成積省略)。この場合, アロ抗原特異的抑制活性よりもアロ抗原非特異的抑制活性の方がCarrageenan 処理による影響を強く受けた。

Table 3 Reduced suppressor activity by treatment with anti-Lyt 1 or anti-Lyt 2 antibody plus complement

Responder	Stimulator	Co-culture cells ^a	Treatment of co-culture cells	% suppression
BALB/c	C3H/He	(BALB/c → C3H/He)	RC	90
			Anti-Lyt 1+RC	59
			Anti-Lyt 2+RC	64
			Anti-Lyt 1+	62
			Anti-Lyt 2+RC	
BALB/c	C57BL/6	(BALB/c → C3H/He)	RC	67
			Anti-Lyt 1+RC	52
			Anti-Lyt 2+RC	48
			Anti-Lyt 1+	57
			Anti-Lyt 2+RC	

^a Spleen cells from chimeras were obtained at 35 days after BMT.

Table 4 Reduced suppressor activity by treatment with anti-L3T4 antibody plus complement

Responder	Stimulator	Co-culture cells ^a	Treatment of co-culture cells	% suppression
BALB/c	C3H/He	(BALB/c → C3H/He)	RC	24
			Anti-L3T4+RC	8
BALB/c	C57BL/6	(BALB/c → C3H/He)	RC	64
			Anti-L3T4+RC	63

^a Spleen cells from chimeras were obtained at 40 days after BMT.

3. Lyt1⁺2⁻あるいはLyt1⁺2⁺抑制T細胞

モノクローナル抗Lyt1.2と補体処理によりBALB/c anti C3H/He MLRに対する抑制活性は90%から59%に減弱した(表3)。抗Lyt2.2抗体と補体処理では90%から64%へと低下した。各々の抗体で処理した細胞を1/2ずつ混ぜた場合は62%の抑制活性を示した。同様に、BALB/c anti C57BL/6MLRに対する抑制活性は抗Lyt抗体と補体処理により67%から52%へと減弱し、抗Lyt2.2抗体と補体処理により48%へと減弱した。各々の抗体で処理した細胞を1/2ずつ混ぜた場合には57%の抑制活性を示した。これらの成績は、Lyt1⁺2⁺およびLyt1⁺2⁻抑制T細胞の関与を示唆する。また、可能性としては少ないが、もしモノクローナル抗体処理で殆どすべての

細胞を除去できないとすると、Lyt1⁺2⁺抑制T細胞の関与も否定できない。

4. L3T4⁺抑制T細胞

モノクローナル抗L3T4抗体と補体処理によりBALB/c anti C3H/He MLRに対する抑制活性は除去されたが、BALB/c anti C57BL/6MLRに対する抑制活性は不変であった(表4)。このことはアロ抗原特異的抑制細胞の一部はL3T4⁺T細胞であることを示唆する。

5. アロ抗原特異的抑制活性およびアロ抗原非特異的抑制活性の経時的変化

アロ抗原特異的抑制活性は移植後50~60日頃に一旦低下し70日前後で再び上昇後また低下するが、アロ抗原非特異的抑制活性の動態はこれとはやや異なる

図 1

○—○ suppressor activity
 against BALB/c anti
 C3H/He MLR

●—● suppressor activity
 against BALB/c anti
 C57BL/6 MLR

Table 5 Inhibition of the generation of cytotoxic cells by spleen cells from chimeras

MLR	Co-culture cells	% cytotoxicity		
		BALB/c	C3H/He	C57BL/6
BALB/c anti-C3H/He	BALB/c	0.0	22.5	4.5
	(BALB/c → C3H/He) ^a	0.0	0.0	2.3
BALB/c anti-C57BL/6	BALB/c	0.0	4.1	23.1
	(BALB/c → C3H/He) ^a	2.5	2.3	1.4

^a Spleen cells from chimeras were obtained at 61 days after BMT.

っていた (Fig. 1)。

6. 細胞障害性細胞の誘導に対する抑制効果

C3H/He に対して感作された BALB/c 脾細胞は、BALB/c 脾細胞を co-culture cells とした場合 C3H/He Con A blasts を 22.5% 破壊したが、キメラ脾細胞を co-culture cells とした場合 0.0% となった。同様に、C57BL/6 で感作された BALB/c 脾細胞は、BALB/c 脾細胞を co-culture cells とした場合 C57BL/6 Con A blasts を 23.1% 破壊したが、キメラ脾細胞を co-culture cell とした場合 1.4% となった (表 5)。

7. 脾臓/骨髄キメラにおけるアロ抗原特異的抑制活性の低下

骨髄キメラの脾細胞は BALB/c anti C3H/He MLR を 55% 抑制したが、脾臓/骨髄キメラのそれは 5% であった (表 6)。一方、骨髄キメラの脾細胞は BALB/c anti C57BL/6 MLR を 54% 抑制し、脾臓/骨髄キメラのそれは 60% であった。

8. mitogen 反応に対する抑制細胞

表 7 に示されているように、(BALB/c → C3H/He) キメラの脾細胞は ConA, PHA, LPS および PWM に対する反応を抑制した。responder が BALB/c マウス脾細胞でも C3H/He マウス脾細胞でも同様に抑制された。成績は省略するが、量依存性が認められた。

9. 脾臓/骨髄キメラにおける mitogen 反応抑制活

Table 6 Decreased suppressor activity against alloantigen specific MLR of spleen cells from spleen/bone marrow chimeras

Responder	Stimulator	Co-culture cells	% suppression
BALB/c	C3H/He	(BALB/c → C3H/He) bone marrow chimeras	55
		(BALB/c → C3H/He) spleen/bone marrow chimeras	5
BALB/c	C57BL/6	(BALB/c → C3H/He) bone marrow chimeras	54
		(BALB/c → C3H/He) spleen/bone marrow chimeras	60

^a Spleen cells from chimeras were obtained at 42 days after BMT.

Table 7 Suppressor activity of spleen cells from chimeras against mitogen-induced responses

Responder	Co-culture cells ^a	% suppression			
		Con A	PHA	LPS	PWM
BALB/c	(BALB/c → C3H/He)	24	23	64	21
C3H/He	(BALB/c → C3H/He)	43	43	66	33

^a Spleen cells from chimeras were obtained at 11 days after BMT.

Table 8 Increased suppressor activity of spleen cells from spleen/bone marrow chimeras against mitogen-induced responses

Responder	Co-culture cells ^a	% suppression			
		Con A	PHA	LPS	PWM
BALB/c	(BALB/c → C3H/He) bone marrow chimeras	9	7	39	18
BALB/c	(BALB/c → C3H/He) spleen/bone marrow chimeras	53	16	74	77

^a Spleen cells from chimeras were obtained at 14 days after BMT.

Table 9 Suppressive effect of spleen cells from chimeras 21 days after BMT on CFU-GM

Source of bone marrow cells	Source of spleen cells ^a	% CFU-GM ^b
BALB/c	BALB/c	100
	(BALB/c → C3H/He)	72
(BALB/c → C3H/He)	BALB/c	100
	(BALB/c → C3H/He)	30

^a Spleen cells from chimeras were obtained at 21 days after BMT.

^b A bone marrow cell : spleen cell ratio of 1 : 0.5 was used.

性の上昇

骨髓キメラの脾細胞より脾臓/骨髓キメラ脾細胞で ConA, PHA, LPS および PWM に対する抑制活性の増強が認められた(表 8)。この成績は, GVHD を強く起こしているキメラでの mitogen 反応に対する抑制活性の増強を示唆する。

10. 血液幹細胞 (CFU-GM) に対する抑制細胞

これまで, MLR, CML および mitogen 反応に対する抑制細胞を検討してきたが, 最後に血液幹細胞のひとつである CFU-GM に対する抑制細胞が存在するか否かを検討した。表 9 に示されているように, キメラ脾細胞中には BALB/c あるいは (BALB/c → C3H/He) キメラ骨髓細胞に含まれる CFU-GM の形成を抑制する細胞の存在することが示唆された。この抑制活性においても量依存性が認められた(成績省略)。

考 察

同種骨髓移植後に抑制細胞が出現することはよく知られている^{1)~4)}。しかし, その生物学的意義についてはまだ不明の点が多い。とりわけ, 免疫学的寛容状態の誘導と維持に重要な役割を果たしているか否かについては一定の見解が得られていない。そこで, これについて検討し, MLR においてアロ抗原特異的抑制細胞とアロ抗原非特異的抑制細胞が出現することおよび CML assay でも抑制細胞が関与していることを示した(表 1, 表 5)。in vitro の実験系ばかりでなく, in vivo においても抑制活性を示すことを adoptive transfer の実験で確かめている⁹⁾。このことは, 同種骨髓キメラマウスに出現した抑制細胞

は免疫学的寛容状態の誘導と維持に重要な役割を果たしていることを示唆している。GVHD を強く起こしているキメラマウスではアロ抗原特異的抑制活性が低下し, アロ抗原非特異的抑制活性は変化しなかったこと(表 6)より, 免疫学的寛容状態の誘導と維持には前者がより重要な役割を果たしていると考えられる。抑制活性を有する細胞の性状解析からは, T 細胞および非 T 細胞の両群にアロ抗原特異的およびアロ抗原非特異的抑制細胞が属していた(表 2)。また, T 細胞の中では, Lyt1^{+2-} , Lyt1^{-2+} および L3T4^{+} T 細胞の関与が示唆された(表 3, 4)。また, キメラマウス脾細胞より作成したクローン化 T 細胞の解析から, Lyt1^{+2-} , Lyt1^{-2+} のほかに Lyt1^{+2+} 抑制 T 細胞の存在が示唆されている⁵⁾⁶⁾。非 T 細胞に属する抑制 T 細胞は大部分が macrophage から成っていることが確かめられ, アロ抗原特異的およびアロ抗原非特異的抑制細胞の両者がその中に含まれていた⁵⁾。従って, アロ抗原特異的抑制細胞とアロ抗原非特異的抑制細胞をその性状より区別することは極めて困難であると考えられる。このことは, 先述のクローン化 T 細胞を用いた解析によっても裏付けられている。しかし, 両抑制細胞の経時的变化が異なること(図 1)および GVHD の程度によっても両者の活性に差が生ずること(表 6)より, これらは異った細胞群に属していると考えられる。

従来, マウスでは helper/inducer T 細胞は Lyt1^{+2-} あるいは L3T4^{+} で, cytotoxic/suppressor T 細胞は Lyt1^{-2+} の表面抗原を持つことが知られていたが, 実験系によっては異なった成績が得られてきたことも事実である。実際キメラマウスでは, Lyt1^{+2-}

あるいは $\text{Lyt}1^{+}2^{+}$ 抑制 T 細胞の関与が報告されている⁷⁻¹⁰⁾。これらの事実は、Sanders ら¹¹⁾がヒトの T 細胞で提唱しているように、suppressor-inducer と helper-inducer T 細胞が別々の細胞群に属するというよりは、分化段階の違いによって機能が異なるという仮説を支持するものといえる。すなわち、“naive T cells” (CD45R) は suppressor-inducer subset であり、“memory T cells” (CDw29) は helper-inducer subset と考えられ、抗原刺激によって“naive T cells”から“memory T cells”へと分化し、機能的にも異なってしまうという考え方である。マウスの場合には Pgp-1 が memory T 細胞の指標となることが示唆されている¹²⁾ので、抗 Pgp-1 抗体を用いた検索が望まれる。また、 $\text{CD}4^{+}$ T 細胞の場合、抗原刺激によって異なった反応性あるいは機能を有する細胞群が誘導される¹³⁾が、その可能性も否定できない。

次に、アロ抗原以外の抗原に対しても抑制活性が認められるか否かを検討したところ、Con A, PHA, LPS および PWM などの mitogens に対しても抑制活性が認められた (表 7)。抑制活性は移植後 10~20 日目が高く、30 日前後で一旦低下し、40~50 日目で再びやや上昇する傾向を示した¹⁴⁾。移植早期 (13 日目) の抑制細胞の多くは host 由来で非 T 細胞からなっており、骨髓キメラでは plastic dish 付着分画で抑制活性が高く、脾臓/骨髓キメラでは plastic dish 非付着分画で抑制活性が高かった¹³⁾。さらに、GVHD が強くなると mitogen 反応に対する抑制活性の増強が認められたこと (表 8) より、mitogen 反応に対する抑制細胞は免疫学的寛容状態の誘導と維持に関係するというよりは非特異的に免疫反応を抑制し、むしろ GVHD に続発した免疫不全症と密接に関連している可能性がある。Maier ら¹⁵⁾によると、移植後 10 日目のキメラマウスに mitogen 反応を抑制する natural suppressor cells が出現し、それは非付着性で非 T 細胞の性状を有するとされている。私達の見出した mitogen 反応に対する抑制細胞は一部 natural suppressor cells と同じものもあるが、plastic dish 付着性のものや経時的变化からするとそれ以外のものも含まれていると考える。

先述のアロ抗原非特異的抑制細胞も免疫学的寛容状態の誘導と維持に重要な働きをしているとは考え難かったが、mitogen 反応に対する抑制細胞との関係は如何なるものであるか考察してみたい。GVHD

を強く誘導したキメラマウスでは、アロ抗原非特異的抑制活性は殆ど不変であったにも拘らず、mitogen 反応に対する抑制活性は増強されたこと、さらには、性状の解折より、前者は T および非 T 細胞よりなり殆どは donor 由来であったが、後者は非 T 細胞で大部分は host 由来であったことより必ずしも同一の細胞群に属するものとは考え難い。実際、キメラマウス脾細胞よりクローン化した抑制細胞を用いて、アロ抗原特異的抑制活性と mitogen 反応に対する抑制活性を検討したところ、両者は必ずしも同一のものではないことが示唆された (成績省略)。従って、アロ抗原非特異的抑制細胞は mitogen 反応に対する抑制細胞とは異なった細胞群に属すと考えられる。その in vivo における生物学的意義は不明であるが、免疫不全症との関連も否定できない。

これまで、アロ抗原あるいは mitogen 反応に対する抑制細胞について言及してきたが、骨髓移植後の造血能の再構築は重要な課題であり、GVHD あるいは抑制細胞がそれに対してどのような影響をおよぼしているのかは興味深い問題である。移植後 21 日目のキメラマウス脾細胞では明らかに CFU-GM の形成を抑制した (表 9) が、28 日目には減弱した。しかも、14 日目には、むしろ CFU-GM の形成が増加しており一過性の抑制効果といえる。造血能の調節に必要な細胞と考えられるが、これまで述べてきた抑制細胞とはその経時的变化から異なった細胞群に属すると考えられる。

以上の事実は、同種骨髓キメラマウスでは種々の抗原特異性および性状を有する抑制細胞が出現し、host にとって好ましい作用を発揮することもあるが、逆に好ましからざる作用を発揮する可能性のあることを示唆している。GVHD に伴って二次的に抑制細胞が出現した結果、一部は合目的に他は非合目的に作用すると考えられるが、各々の抑制細胞の性状が必ずしも明瞭でないために、現在のところ host にとって有利な抑制細胞だけを温存することは難しい。将来的には、その制御方法を確立して骨髓移植の成功率を高めることが期待されよう。しかし、種々の抑制細胞が存在するとはいっても、生体におけるその時々条件によって抗原特異性に変化が誘導される可能性もあり⁶⁾、その場合にはアロ抗原特異的抑制細胞も実はアロ抗原非特異的抑制細胞の一亜型ということになり、前者のみを選択的に誘導し増強することは極めて困難となる。今後の研究が必要と考えられる。

お わ り に

同種骨髄キメラマウスには、免疫学的寛容状態の誘導と維持に必要なアロ抗原特異的抑制細胞と免疫不全症に関係する可能性のあるアロ抗原非特異的抑制細胞および mitogen 反応に対する抑制細胞が出現する。これらの性状は必ずしも明確に区別できないが、同一の細胞のみから成りたっているとは考え難い。さらに、造血幹細胞の増殖・分化に関係すると考えられる抑制細胞の存在も示唆された。このように、種々の抗原特異性および性状を有する抑制細胞が、一方では host に好都合に、他方では host に不都合に作用することが示唆された。これら抑制細胞は生体の病態生理と密接に関連して出現すると考え

られる。今後、生体における抑制細胞の出現を如何に調節するかが骨髄移植の成否を決めるひとつの重要な課題となる。

謝 辞

本学会の本シンポジウムにおいて発言の機会を与えて下さいました会長の三方淳男教授ならびに司会の労を御執り下さいました森茂郎、宮崎保兩教授に深謝致します。また、共同研究者としての藤本比沙雄、福原敬、橋野聡、小林正伸、笠井正晴、桜田恵右の諸先生に感謝致します。なお、本研究の一部は厚生省特発性造血障害調査研究班からの研究費によって行なわれたものである。

文 献

- 1) Tsoi, M. S. Storb, R. Dobbs, S. and Thomas, E. D. : Specific suppressor cells in graft-host tolerance of HLA-identical marrow transplantation. *Nature* 292:355-357 1981
- 2) Slavin, M. and Strober, S. : Induction of allograft tolerance after total lymphoid irradiation (TLI) : development of suppressor cells of the mixed leukocyte reaction (MLR) . *J Immunol* 123 : 942-946 1979
- 3) Tutschka, P. J. Hess, A. D. Beschoner, W. E. and Santos, G. W. : Suppressor cells in transplantation tolerance. I. suppressor cells in the mechanism of tolerance in radiation chimera. *Transplantation* 32 : 203-209 1981
- 4) Imamura, M. Miyazaki, T. Fujimoto, H. et al : The activity of suppressor cells in the spleen of murine bone marrow chimeras. *Transplantation* 42 : 584-555 1986
- 5) Imamura, M. Fujimoto, H. Fukuhara, T. et al : Characterization studies of suppressor cells in murine bone marrow chimeras. *Immunology* 60 : 29-36 1987
- 6) Imamura, M. Fujimoto, H. Fukuhara, T. et al : Suppressor activity in the supernatant of T cell clones derived from chimeric mouse spleen cells. *Immunobiology* 177 : 91-103 1988
- 7) Shand, F. L. : Ly and Ia phenotype of suppressor T cells induced by graft-vs-host reaction. *Eur J Immunol* 7 : 746-748 1977
- 8) Pickel, K. and Hoffmann, M. K. : The Ly phenotype of suppressor T cells arising in mice subjected to a graft-versus-host reaction. *J Exp Med* 145 : 1169-1175 1977
- 9) Hurtenbach, U. and Shearer, G. M. : Analysis of murine T lymphocyte markers during the early phases of GVH - associated suppression of cytotoxic T lymphocyte responses. *J Immunol* 130 : 1561-1566 1983
- 10) Gleichmann, E. Rolink, A. G. pals, S. T. and Gleichmann, H. : Graft - vs - host reactions (GVHRs) : clues to the pathogenesis of a broad spectrum of immunologic diseases. *Transplant Proc* 15 : 1436-1440 1983
- 11) Sanders, M. E. Makgoba, M. W. and Shaw, S. : Human naive and memory T cells : reinterpretation of helper-inducer and suppressor-inducer subsets. *Immunol Today* 9 : 195-199 1988
- 12) Budd, R. C. Cerottini, J. C. and MacDonald, H. R. : Phenotypic identification of memory cytolytic T lymphocytes in a subset of Lyt-2⁺ cells. *J Immunol* 138 : 1009-1013 1987
- 13) Bottomly, K. : A functional dichotomy in CD4⁺ T lymphocytes. *Immunol Today* 9 : 268-274 1988
- 14) Imamura, M. Fujimoto, H. Fukuhara, T. et al : Nonspecific suppressor cells in murine bone marrow chimeras : their possible role in GVHD-associated immunodeficiency. *Immunobiology* 176 : 313-327 1988

- 15) Maier, T. Holda, J. H. and Claman, N. : Graft-
vs-host reactions (GVHR) across minor murine
histocompatibility barriers. II. Development of
natural suppressor cell activity. J Immunol 135 :
1644-1651 1985