

Concanavalin A 및 방사선조사 처리한 마우스의 면양적혈구에 대한 입양면역

Adoptive Immune Response to Sheep RBC in Concanavalin A treated and irradiated Mouse

서울대학교 의과대학 미생물학교실
장우현 · 김익상 · 이명수 · 이승훈

서 론

'Concanavalin A(Con A)는 jack bean(*Canavalia ensiformis*)에서 추출한 단백질로서(Sumner, 1919) α -D-mannopyranosyl group 과같은 특정 당 결정기에 높은 친화력을 가진(So and Goldstein, 1967) 림프구에 대한 비특이성 mitogen으로 알려져 있으며(Stobo 등, 1972), Con A로 림프구를 자극하면 피부반응 억제인자(Schwartz 등, 1970), 거식세포 이동 억제인자(Re-mold 등, 1972) 등 여러 종류의 Lymphokine(Rich 등, 1974; Gorski 등, 1975; Jandinski 등, 1976; Tadakuma 등, 1976; Unaue 등, 1976; Farrar 등, 1978; Tadakuma 등, 1978; Claesson, 1979; Watson 등, 1979)이 유발된다고 알려져 있다. 한편 Con A가 지연성 과민 반응(Leon 등, 1969) 및 이식 거부반응(Markowitz 등, 1969)을 지연 내지 억제한다는 보고에 이어, Con A는 생체(Barth 등, 1973; Egan 등, 1974; Egan 등, 1975) 및 시험관내에서(Dutton, 1972; Rich 등, 1973) 면양 적혈구에 대한 Plaque Forming Cell(PFC) 반응을 억제하였다는 보고 이후, 그 기전 규명을 위한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 그 결과 Con A로 자극된 림프계 세포 가운데 항원 비특이성억제 T-세포가 활성화 되거나(Dutton, 1972; Rich 등, 1973) 그때 배양액중에 생성되는 가용 면역억제인자(Rich 등, 1974; Tadakuma, 등 1976; Jandinski, 1976; Tadakuma 등, 1978)에 의하여 체액성 면연반응이 억제되는 것으로 알려져 있다.

그런데 지금까지 Con A로 활성화된 Ts세포 및 가용성 면역반응 억제물질에 관한 보고는 시험관내 PFC반

응으로써 증명된 것이지 복잡한 면역조절이 관여하는 생체내 반응으로 관찰하여 보고된 바는 없다.

따라서 저자들은 Con A로 자극한 마우스의 림프계 세포를 방사선조사 마우스에 생체이식하였을 때 PFC 반응이 억제되는 가를 관찰하기 위하여 본 실험을 시행하여 유의있는 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 동 물

본 실험에 사용한 동물은 체중 20 ± 3 gm의 A계마우스로서 서울대학교 실험동물사육장에서 분양받아 사용하였다.

2. 면역조작 및 Con A처리

항원으로 사용한 면양적혈구는 채혈 후 면양혈액을 Alserver씨액에 동량혼합하여 4°C 에 보관하면서 2주일 이내에 사용하였으며, 사용직전 Hank's balanced salt solution(Hank' BSS, PH 7.4)으로 $400 \times \text{G}$ 에서 10분간 3번 원심세척한 후 마우스당 $10^8 \sim 10^9$ 의 세포를 부강 또는 정맥내로 주사하여 면역하였다.

Concanavalin A(Cal-Biochem. Lot No. 210073)는 Hank's BSS에 $1,000 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이 되게 용해시켜 -50°C 에 보관하였다가 필요에 따라 희석하여 부강 또는 정맥내로 주사하였다.

3. 면양적혈구에 대한 PFC assay

PFC assay는 Jerne(1963)의 방법을 변형한 Slide법으로 하였다(Lefkovits 등 1979).

4. 동계 마우스에의 세포이식

마우스의 비장 또는 흉선세포 부유액을 정상 또는 방사선조사마우스에 정맥내로 주사하였다. 입양전달용 세포부유액은 앞서 기술한 PFC assay에서와 같은 방

* 본 연구는 1979년도 서울대학교 의과대학 동창회 재단 연구비의 보조로 이루어졌음.

법으로 만든 후 10분간 실온에서 정치하여 가라앉은 조직편을 제거하고, 상청의 세포를 $300 \times G$ 에 10분간 2회 원심세척한 후 Trypan blue를 이용하여 생존세포 수를 산정하였다. 방사선조사 마우스는 $^{60}Co-700rad$ 로 전신조사하여 (Shearer 등, 1974) 4시간 이내에 사용하였다.

5. 결과분석

실험결과와 분석은 student t-test로 하였다.

결 과

1. Con A가 면역적혈구(SRBC)에 대한 PFC반응에 미치는 영향

Con A가 SRBC에 대한 PFC반응에 미치는 영향을 보기 위하여 면역하기 4, 3, 2, 1일 전이나 면역과 동시에 또는 면역하고 1, 2, 3일 후에 각각 $300\mu g$ 의 Con A를 복강내로 주사하고 PFC반응을 측정된 결과, 그림 1에서 보는바와 같이 면역하기 1일 또는 2일전에 Con

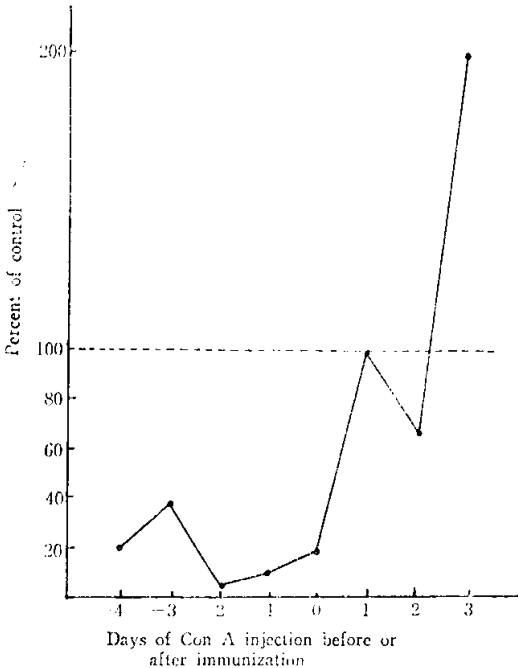


Fig. 1. Effect of various time interval between Con A treatment and immunization on the primary direct PFC response to SRBC.

Percent of control

$$= \frac{G.M \text{ of PFC}/10^6 \text{ cells}(\text{test})}{G.M \text{ of PFC}/10^6 \text{ cells}(\text{control})} \times 100$$

P values: Day (-2), (-1) < .05

$300\mu g$ of Con A and 10^8 of SRBC were injected intraperitoneally.

PFC response was measured on day 4.

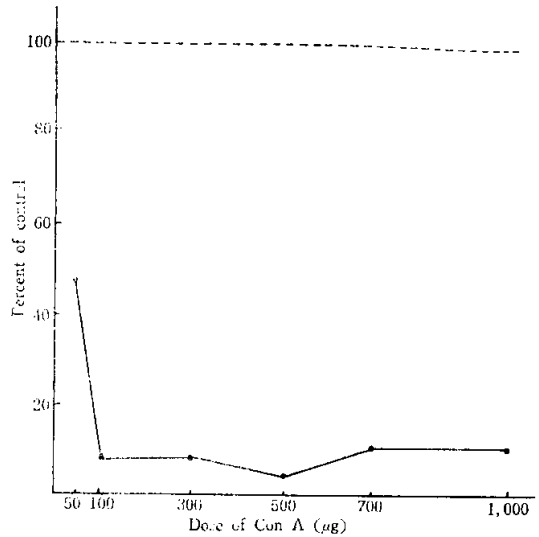


Fig. 2. Effect of various dosages of Con A given one day before immunization on the primary direct PFC response to SRBC.

Percent of control

$$= \frac{G.M. \text{ of PFC}/10^6 \text{ cells}(\text{test})}{G.M. \text{ of PFC}/10^6 \text{ cells}(\text{control})} \times 100$$

P values: 100, 300, 700, 1,000 μg < .05

$500\mu g$ < .05

Con A and 10^8 SRBC were inject intraperitoneally.

PFC response was measured on the 4th day after immunization.

A로 처리한 경우 SRBC에 대한 PFC반응이 억제되었다.

Con A의 투여량에 따른 효과를 보기 위하여 면역하기 2일전에 $50 \sim 1,000\mu g$ 의 Con A를 복강내로 주사하고 PFC반응을 측정된 결과 그림 2에서와 같이 $100\mu g$ 이상을 투여한 경우 SRBC에 대한 PFC반응이 억제되었다.

Table 1. Effect of SRBC dosages on the suppressive effect of Con A on the primary direct PFC response to SRBC

Treatment	log PFC/ 10^6 cells (PFC/ 10^6 cells)	P value
Con A + 10^8 SRBC	1.26 ± 0.32 (18)	< .05
10^8 SRBC	2.68 ± 0.40 (479)	
Con A + 10^6 SRBC	2.75 ± 0.64 (562)	> .05
10^6 SRBC	3.39 ± 0.10 (2,450)	

a. Animals were treated with $300\mu g$ of Con A 2 days before immunization intraperitoneally.

b. PFC response was measured on the 4th day after immunization.

Table 2. Effect of Con A(via i.v.) on the primary direct PFC response to SRBC

Treatment		log PFC/10 ⁶ cells (mean of PFC/10 ⁶ cells)	P value
day	Dose (μg)		
-1	300	1.659±0.643 (46)	<.05
-1, -2, -3	100×3	1.408±0.512 (26)	<.05
	none	2.541±0.542 (350)	

a. Animals were treated i.v. with Con A and 10⁸ of SRBC on day 0.

b. PFC response was measured on the 4th day after immunization.

항원인 SRBC의 투여량이 Con A의 면역 반응에 대한 억제효과에 미치는 영향을 보기 위하여, 2일전에 300μg의 Con A를 복강내로 주사한 마우스를 10⁸ 또는 10⁹의 SRBC로 면역하고 4일후에 PFC assay를 실시하였다. 표 1에서 보는바와 같이 10⁸의 SRBC를 투여한 마우스에서는 PFC반응이 억제되었으나, 10⁹을 투여한 경우에는 PFC반응이 억제되지 않았다.

Con A의 림프계에 대한 전신적인 영향을 기대하여 Con A를 정맥내로 투여한 후 PFC반응에 대한 효과를 본 결과, 표 2에 나타난 바와 같이 300μg의 Con A를 면역(10⁸의 SRBC를 정맥내 주사) 하루 전에 단독 투여하거나 3회에 나누어 반복투여한 경우 모두 PFC반

응이 억제되었다.

2. 방사선조사 마우스에 1차 또는 2차 PFC반응의 입양전달

입양전달의 조건을 정하기 위하여, 7일전 SRBC(5×10⁸)로 면역한 마우스의 비장세포를 SRBC(5×10⁸)와 함께 방사선 조사한(⁶⁰Co-700rad) 마우스에 정맥내 주사한 후 PFC assay를 시행하여 시간경과에 따른 동태를 관찰하였다. 즉 방사선조사후 림프계의 손상 및 재생에 따르는 세포수의 증감과 아울러 입양된 세포의 비장내에서의 증식양상을 관찰하기 위하여 방사선조사 후 마우스의 비장내 유핵세포의 수를 산정하였다. 그림 3에서 보는 바와 같이 대조군의 방사선조사 마우스

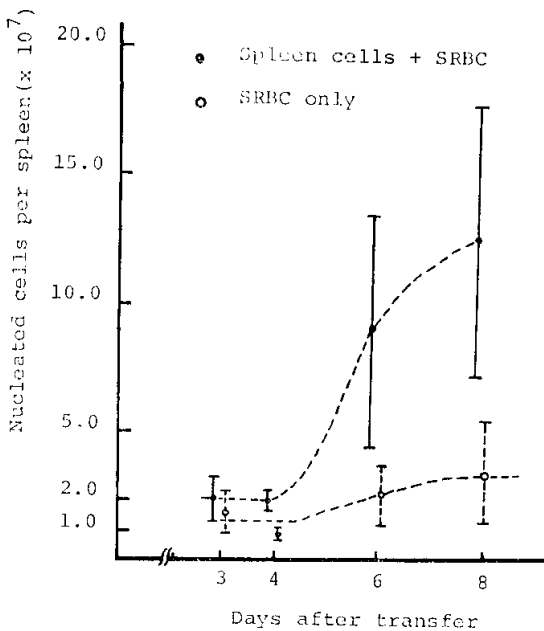


Fig. 3. Number of nucleated cells per recipient spleen in irradiated mice(⁶⁰Co-700rads) injected i.v. with 5×10⁷ spleen cells(immunized with 5×10⁸ SRBC 7 days before) and 5×10⁸ SRBC. Each point and bracket are arithmetic mean and standard deviation.

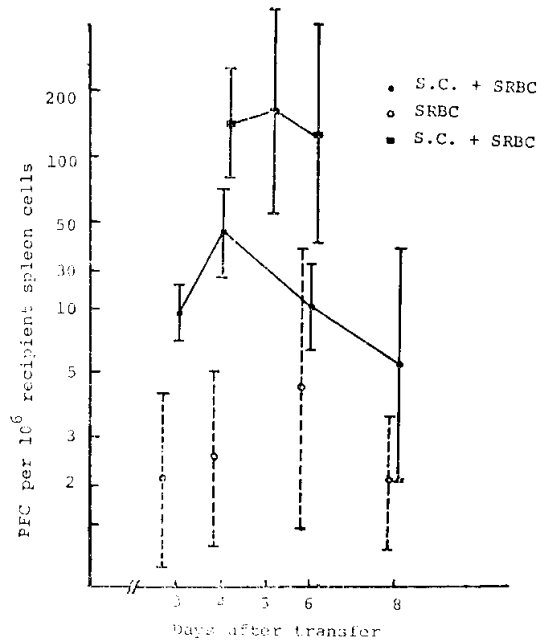


Fig. 4. Direct PFC per 10⁶ recipient spleen cells in irradiated mice (⁶⁰Co-700 rads) injected i.v. with 5×10⁷ spleen cells (immunized with 5×10⁸ SRBC 7 days before) and 5×10⁸ SRBC. Each point and bracket are geometric mean and standard deviation.

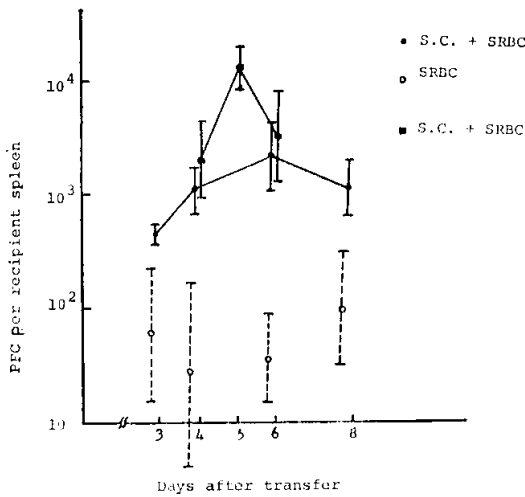


Fig. 5. Direct PFC per recipient spleen in irradiated mice (^{60}Co -700 rads) injected i.v. with 5×10^7 spleen cells (immunized with 5×10^8 SRBC 7 days before) and 5×10^8 SRBC. Each point and bracket are geometric mean and standard deviation.

에서는 손상된 림프계의 재생이 아주 서서히 진행되는 반면, 면역세포를 입양받은 경우에는 4일 이후부터 비장내 세포의 증식이 활발하여 세포수가 현저하게 증가하였다. 이때 PFC반응양상을 보면, 10^6 비장세포당 당 PFC수(그림 4)나, 비장당 PFC의 수(그림 5)는 다 같이 제 5일에 최고치에 달하였으나, 10^6 비장세포를 단위로 PFC수를 볼때 대조군에 비하여 세포를 입양받은 군에서 통계적으로 뚜렷한 PFC수에 차이가 없었던 반면, 비장당 PFC수를 볼때 입양전달에 의하여 뚜렷한 증가를 보였다.

입양전달시 항원량을 SRBC 1×10^8 이나 5×10^8 으로 주입하는 경우, 입양 5일후의 PFC반응에 전혀 차이가

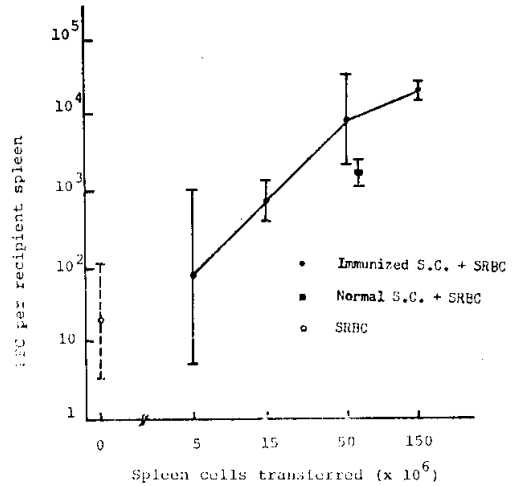


Fig. 6. Mean number of direct PFC per recipient spleen in irradiated syngeneic recipients (^{60}Co -700 rads) as a function of the number of immunized or normal spleen cells injected. Recipients were injected i.v. with mixtures of spleen cells and 5×10^8 SRBC. PFC response was measured on day 5.

없는 것을 관찰하였다.

1차 PFC반응의 입양전달의 가능성 및 2차 PFC반응의 입양전달시에 입양되는 면역세포의 수적 증가에 따른 비장내 PFC반응의 양상을 관찰하고자, 정상비장세포(5×10^7) 또는 면역된 비장세포($5 \sim 150 \times 10^6$)를 SRBC (5×10^8)와 함께 정맥내로 주사하고 5일후 PFC assay를 시행하였다. 그 결과 그림 6에서 보는 바와 같이 입양된 면역세포의 수적 증가에 따라 2차 PFC반응은 직선상으로 증가하다가 기울기가 감소되었다. 한편 정상 마우스의 비장세포를 입양한 마우스에서도 정도는 약하지만 1차 PFC반응의 입양전달이 이루어진 것을 관찰할 수 있었다.

Table 3. Effect of Con A-activated spleen cells on primary or secondary direct PFC response to SRBC through adoptive transfer in irradiated mice

Cells transferred	log PFC/spleen (mean of PFC/spleen)	P value
Immunized S.C.+Con A-S.C	3.101 ± 0.250 (1,260)	<.05
Immunized S.C.+normal S.C	3.536 ± 0.034 (3,440)	
Normal S.C.+Con A-S.C.	2.201 ± 0.174 (160)	<.05
Normal S.C.	2.890 ± 0.213 (780)	

- Con A-S.C. was made from spleens of mice treated with $100\mu\text{g}$ of Con A 3 times on days -3, -2, and -1 relative to the day of transfer.
- Immunized S.C. was made from spleens of mice immunized with 5×10^8 of SRBC 7 days before transfer.
- All mice were irradiated with 700 rads of ^{60}Co , and then transferred with mixtures of 4×10^7 of spleen cells and 2×10^8 of SRBC.

Table 4. Effect of passively transferred Con A-activated thymocytes and spleen cells on the primary direct PFC response in normal mice

Cells transferred*	PFC assay on day 4		PFC assay on day 6	
	log PFC/10 ⁶ cells (PFC/10 ⁶ cells)	P	log PFC/10 ⁶ cells (PFC/10 ⁶ cells)	P
Con A-activated thymocytes	2.74±0.43 (540)	>.05	1.87±0.42 (74)	>.05
normal thymocytes	2.60±0.30 (400)		1.51±0.63 (33)	
Con A-activated spleen cells	2.81±0.22 (640)	>.05	1.38±0.47 (24)	>.05
normal spleen cells	2.64±0.41 (435)		2.08±0.09 (120)	

* 2×10⁷ of thymocytes or spleen cells were prepared from the mice injected i.v. with 300μg of Con A on day -1, and then transferred to recipients as mixtures with 2×10⁸ SRBC.

3. Con A 활성화 림프계세포의 생체이식

마우스의 PFC반응에 대한 Con A의 억제세포가 비장세포에 의해 증대되는 것을 임상전달시험을 통해 증명하고자 정상 또는 면역된 비장세포(2×10⁷)와 함께 Con A로 처리한 마우스의 비장세포(2×10⁷)를 방사선 조사 마우스(⁶⁰Co-700 rad)에 임상하고 5일 후에 PFC assay를 실시하였다. 표 3에서 보는 바와 같이 대조군에 비해 PFC반응이 억제되었고 따라서 Con A처리된 마우스의 비장세포내에는 1차 및 2차 PFC반응을 억제할 수 있는 세포가 존재함을 추정할 수 있었다.

Con A 활성화 림프계세포를 가지고 PFC반응에 대한 Con A의 억제효과를 정상마우스에 전달할 수 있는가를 보고자 표 4에서와 같이 Con A로 처리된 마우스의 비장 또는 흉선세포(2×10⁷)를 SRBC(2×10⁸)와 함께 정상 동계 마우스에 정맥내 주사후 4일과 6일째에 PFC assay를 실시한 결과, 제 4일에는 비장세포를 임상받은 마우스나 흉선세포를 임상받은 마우스에서 각 대조군과 PFC반응에 차이가 없었고 제 6일에는 비장세포를 임상받은 마우스에서만 PFC반응이 억제되었다. 즉 Con A에 의한 면역억제효과는 비장세포를 가지고 정상마우스에 전달이 가능하였으며 흉선세포로는 전달되지 않았다. 이 때 억제효과는 반응의 후기에 나타난 것을 볼 수 있었다.

고 안

마우스의 면양적혈구에 대한 PFC반응에 미치는 Con A의 억제효과를 본 실험에서 Con A의 투여량 및 항원과의 상대적인 투여시기에 따른 효과는 Barth(1973) 및 Egan(1974) 등의 실험결과와 거의 일치하는 결과를 보여 면양적혈구로 면역하기 전에 Con A를 투여한 경우에만 PFC반응이 억제되는 것으로 보아 Con A의 영향이 면역반응의 초기단계에 작용하거나 또는 작용기전이 달린되기까지는 어느 정도의 시간이 필요한

것으로 추정되며, 면역하기 3일 전에 Con A를 투여하면 억제효과가 없는 것으로 보아 작용시간이 짧은 것으로 추정된다.

Con A의 투여경로에 따른 효과에 대한 결과를 따로 명시하지는 않았으나 Con A와 면양적혈구의 투여경로가 같은 경우에는 억제효과가 있었으나 Con A를 복강내 주사한 후 면양적혈구를 정맥내로 투여한 경우에는 효과가 없었던 바 이것으로 Con A의 투여경로에 따라 PFC반응에 대한 억제작용의 기전이 다르다고 추정되며 Con A를 복강내로 투여하는 경우에는 림프계에 대한 전신적인 영향이라기 보다는 복강내에 국소적으로 아마도 대식세포에 작용하는 것으로 해석할 수 있다.

복강내로 주입된 Con A의 작용부위가 대식세포일 것이라는 해석을 뒷받침하는 또 다른 증거로는 Con A의 투여시기에 따른 효과를 들 수가 있다. 즉 면양적혈구로 면역하기 1일 또는 2일전에 Con A를 투여한 경우에 효과가 있는 것으로 미루어 Con A는 면역반응의 초기단계에 작용하리라고 추정되며 이는 또한 Con A가 대식세포내에 큰 액포의 형성을 유도하고 이 액포는 24시간 이상 지속되어 48시간 이후엔 점차 작아지는데 이 액포의 존재가 항원의 식작용에는 영향을 주지 않으나 액포를 가진 대식세포내에서는 phagolysosome의 형성이 안되었다는 Edelson(1974) 및 Goldman(1975)의 실험결과와 함께 Con A가 대식세포에 우선적으로 작용하여 항원의 처리 내지 제시 과정의 저하를 초래하여 체액성면역반응을 억제하리라고 추정할 수 있는 간접적인 증거가 될 것이다. 또 Con A가 10⁶의 면양적혈구에 대한 PFC반응에는 억제효과를 보였으나 10⁸의 면양적혈구에 대해서는 영향을 주지 못했다는 실험성적도 간접적인 증거로 제시해 볼 수 있겠다.

Con A를 정맥내로 투여한 마우스에서 면양적혈구에 대한 PFC반응이 억제되는 것은 적어도 부분적으로 활성화된 억제세포의 존재에 기인한다는 것을 동계 방사

선조사마우스에의 입양전달시험을 통하여 증명하였다.

Con A로 활성화된 비장세포로써 정상마우스에 면역 억제효과를 전달할 수 있었던 본 실험의 결과로써 Con A의 활성화 결과산물을 생체내 면역억제에 이용할 수 있으리라는 가능성을 제시할 수 있다. 물론 이 가능성의 실재를 증명하기 위해서는 그 산물(예 : 가용성 면역억제물질)을 생체실험에 적용시키는 등 계속적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

총괄

Con A가 마우스 생체내에서 체액성 면역반응에 대한 영향을 보기 위하여 Con A로 활성화시킨 비장세포를 정상 또는 방사선조사 마우스에 입양 전달하여 면양 적혈구에 대한 비장세포의 PFC반응을 측정하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 면양 적혈구로 면역하기 1일 또는 2일 전에 Con A로 처리하였을 때 반응이 현저히 억제되었다.
2. Con A에 의한 억제효과는 면양 적혈구를 10⁸ 주입하였을 때는 억제되었으나 10⁹을 주입하였을 때는 억제효과가 없었다.
3. 정상 또는 방사선조사 마우스에 Con A로 활성화시킨 비장세포를 입양 전달하여 면양 적혈구에 대한 1차 및 2차 PFC반응이 억제됨을 관찰하였다.
4. Con A로 활성화된 흉선세포를 입양 전달하였을 때에는 면역 억제작용이 관찰되지 않았다.

—ABSTRACT—

Adoptive immune response to sheep RBC in Concanavalin A treated and irradiated mouse

Woo Hyun Chang, Ik Sang Kim,
Myung Soo Lee and Seung Hoon Lee
Department of Microbiology, College of Medicine
Seoul National University

Mice treated with Con A, via the same route as that of immunization, one or two days prior to immunization with SRBC showed a significant suppression of direct PFC response. This immunosuppressive effect could be reversed by using higher dose of antigen. Cotreatment of Con A-activated spleen cells suppressed primary or secondary PFC response of the irradiated mice adoptively transferred with normal or

immunized spleen cells. Normal syngeneic recipient mice transferred with Con A-activated spleen cells showed a suppression of primary direct PFC response. Recipients transferred with Con A-activated thymocytes showed no effect on PFC response.

It is suggested that Con A induced immunosuppression of T-dependent humoral immune response in mice is at least partly due to the activation of a subpopulation of T cells, and that the effect is transferred to syngeneic normal mice with Con A-activated spleen cells.

REFERENCES

Anaclerio, A., Waterfield, J.D. and Mooler, G.; *Induction of lymphocyte-mediated cytotoxicity against allogeneic tumor cells by Con A in vivo. J. Immunol.*, 113:870, 1974.

Barth, R.F., and Singla, O.: *Differential effects of concanavalin A on T helper dependent and independent antibody responses. Cell. Immunol.*, 9:96, 1973.

Claesson, M.H.: *Soluble suppressor activity of concanavalin A activated spleen cells on B-lymphocyte colony formation in vitro. Cell. Immunol.*, 42:344, 1979.

Dutton, R.W.: *Inhibitory and stimulatory effects of Con A on the response of mouse spleen cell suspensions to antigen. I. Characterization of inhibitory cell activity. J. Exp. Med.*, 136:1445, 1979.

Egan, H.S., Reeder, W.J. and Ekstedt, R.D.: *Effect of Con A in vivo in suppressing the antibody response in mice. J. Immunol.*, 112:63, 1974.

Egan, H.S., and Ekstedt, R.D.: *Suppression of a thymus dependent humoral response in mice by Con A in vivo. Cell. Immunol.*, 18:365, 1975.

Edelson, P.J., and Cohn, Z.A.: *Effects of Con A on mouse peritoneal macrophages. I. Stimulation of endocytic activity and inhibition of phagolysosome formation. J. Exp. Med.*, 140:1364, 1974.

Farrar, J.J., Simon, P.L., Koopman, W.A. and Bonar, J.F.: *Biochemical relationship of thymocyte mitogenic factor and factors enhancing humoral and cell-mediated immune responses. J. Immunol.*, 121:1353, 1978.

- Goldman, R., and Raz, A.: *Con A and the in vitro induction in macrophages of vacuolation and lysosomal enzyme synthesis. Expl. Cell. Res.*, **96**:393, 1975.
- Gorski, A.J., Dupont, P., Hansen, J.A., and Good: R.A.: *Leukocyte migration inhibitory factor (LMIF) induced by concanavalin A: Standardized micrcassay for production in vitro. Proc. Natl. Sci. USA.*, **72**:3197, 1975.
- Jandinski, J., Cantor, H., Tadakuma, T., Peavy, D.L., and Pierce, C.W.: *Separation of helper T cells from suppressor T cells expressing different Ly components. I. Polyclonal activation. Suppressor and helper activities are inherent properties of distinct Tcell subclasses, J. Exp. Med.*, **143**:1382, 1976.
- Jerne, N.K., and Nordin, A.A.: *Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. Science*, **140**:405, 1963.
- Kastner, D.L., and Rich, R.R.: *Regulation of alloantigen-induced cytotoxic responses by Con A-activated lymphoid cells: Suppression by antigen elimination. J. Immunol.*, **121**:1732, 1978.
- Lefkovits, I., and Cosenza, H.: *Immunological Methods*, p.281 Academic Press, N.Y 1979.
- Leon, M.A., and Schwartz, H.J.: *Inhibition of delayed hypersensitivity to tuberculin by Con A. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **131**:735, 1969.
- Markowitz, H., Person, D.A., Gitnick, G.L., and Ritts, R.E.: *Immunosuppressive activity of Con A. Science.*, **163**:476, 1969.
- Remold, H.G., David, R.A. and David, J.R.: *Characterization of migration inhibitory factor (MIF) from Guinea pig lymphocytes stimulated with concanavalin A. J. Immunol.*, **109**:578, 1972.
- Peavy, D.L., and Pierce, C.W.: *Cell-mediated immune responses in vitro. I. Suppression of the generation of cytotoxic lymphocytes by Con A and Con A-activated spleen cells. J. Exp. Med.*, **140**:356, 1974.
- Rich, R.R., and Pierce, C.W.: *Biological expressions of lymphocyte activation. I. Effects of phytomitogens on antibody synthesis in vitro. J. Exp. Med.*, **137**:205, 1973.
- Rich, R.R., and Pierce, C.W.: *Biological expressions of lymphocyte activations. II. Generation of a population of thymus-derived suppressor lymphocytes. J. Exp. Med.*, **137**:649, 1973.
- Rich, R.R., and Pierce, C.W.: *Biological expressions of lymphocyte activation. III. Suppression of plaque-forming cell responses in vitro by supernatant fluids from concanavalin A-activated spleen cell cultures. J. Immunol.*, **112**:1360, 1974.
- Rich, R.R., and Rich, S.S.: *Biological expressions of lymphocyte activation. IV. Con A-activated suppressor cells in mouse mixed lymphocyte reaction. J. Immunol.*, **114**:1112, 1975.
- Schwartz, H.J., Leon, M.A. and Pelley, R.P.: *Concanavalin A-induced release of skin-reactive factor from lymphoid cells. J. Immunol.*, **104**:65, 1970.
- Shearer, G.M., Weinstein, Y. and Melmon, K.L.: *Enhancement of immune response potential of mouse lymphoid cells fractionated over insolubilized conjugated histamine columns. J. Immunol.*, **113**:597, 1974.
- Shearer, G.M., Cudkovicz, G., Connel, M.J. and Priore, R.L.: *Cellular differentiation of the immune system of mice. I. Separate splenic antigen-sensitive units for different types of anti-sheep antibody forming cells. J. Exp. Med.*, **128**:437, 1968.
- So, L.L., and Goldstein, I.J.: *Protein-carbohydrate interaction. IX. Application of the quantitative hapten inhibition technique to polysaccharide-Con A interaction. J. Immunol.*, **99**:158, 1967.
- Stobo, J.D., Rosenthal, A.S. and Paul, W.E.: *Functional heterogeneity of murine lymphoid cells. I. Responsiveness to and surface binding of Con A and PHA. J. Immunol.*, **108**:1, 1972.
- Sumner, J.B.: *The globulins of the jack bean, Canavalia ensiformis. J. Biol. Chem.*, **37**:137, 1919.
- Tadakuma, T., and Pierce, C.W.: *Site of action of a soluble immune response suppressor (SIRS) produced by concanavalin A-activated spleen cells. J. Immunol.*, 1976.
- Tadakuma, T., Kuhner, A.L., Rich, R.R., David, and Pierce, C.W.: *Biological expressions of lymphocyte activation. V. Characterization of a soluble immune response suppressor (SIRS) produced by concanavalin A-activated spleen cells. J. Immunol.*, **117**:323, 1976.
- Tadakuma, T., and Pierce, C.W.: *Mode of action of*

a soluble immune response suppressor (SIRS) produced by concanavain A-activated spleen cells. J. Immunol., 120:481, 1978.

Tsoukas, C.D., and Martz, E.: *Simultaneous suppression of allogeneic cytolytic activity and stimulation of lectin-dependent cytolytic activity by Con A. Cell. Immunol., 40:103, 1978.*

Unanue, E.R., Kiely, J.M. and Calderon, J.: *The*

modulation of lymphocyte functions by molecules secreted by macrophages. II. Conditions leading to increased secretion. J. Exp. Med., 144:155, 1976.

Watson, J., Gillis, S., Marbrook, J., Mochizuki, D. and Smith, K.A.: *Biochemical biological characterization of lymphocyte regulatory molecules. I. Purification of a class of murine lymphokines. J. Exp. Med., 150:849, 1979.*