

Über den Nachweis zellgebundener Antikörper in vitro*

H. SCHÄFER, H. WUTTKE und O. HAFERKAMP

Pathologisches Institut der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

Eingegangen am 26. Februar 1966

Die Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ (Tuberkulintyp) spielt bei chronisch-bakteriellen Infektionen, bei einigen allergischen Erkrankungen sowie auch bei der Transplantationsabstoßung eine wesentliche Rolle. Trotz zahlreicher Untersuchungen ist der genaue Mechanismus sowie die Natur der Reaktion vom verzögerten Typ noch nicht recht geklärt. Da diese Reaktionsbereitschaft nicht durch Serum, sondern nur durch Zellen der lymphatischen Reihe oder auch schon durch bestimmte Extrakte dieser Zellen (LAWRENCE, 1955) von einem sensibilisierten Organismus auf ein zweites Individuum übertragen werden kann, wird angenommen, daß sie an lymphatische Zellen gebunden ist.

Auf der Suche nach einer weiteren Nachweismöglichkeit der Bereitschaft zu einer Reaktion (Allergie) vom Tuberkulintyp mit ihren zellständigen, an Lymphocyten fixierten Antikörpern bot sich die Gewebekultur an. In der Literatur finden sich jedoch die widersprechendsten Aussagen über die Wirkung eines Antigens wie etwa auch die des Tuberkulins auf in der Gewebekultur gezüchteten Zellen von Menschen und Tieren mit einer Tuberkulinallergie.

Ein — allerdings uncharakteristischer — Einfluß von Tuberkulin auf Lymphocyten von tuberkulösen Spendern konnte bereits von HOLST (1922) nachgewiesen werden. Eine hemmende, ja geradezu toxische Wirkung von Alttuberkulin wie auch von gereinigtem Tuberkulin in Zellkulturen von spezifisch-sensibilisierten Tieren und Menschen beobachteten RICH und LEWIS (1932) sowie verschiedene andere Autoren (FAVOUR, 1947; WAKSMAN, 1953; RAFFEL, 1954; SCHMIDT, 1953). Die Annahme, daß das Antigen (Tuberkuloprotein) die spezifisch-sensibilisierten Zellen obligat toxisch schädige, verlor jedoch an Bedeutung, als durch weitere jüngere Untersuchungen mit verschiedenen Techniken, Geweben und Zelltypen die Resultate und Deutungen stark differierten. ELVES, ROATH und ISRAEL (1963), PEARMAIN, LYZETTE und FITZGERALD (1963), COWLING und QUAGLINO (1964) sowie HEILMAN und MCFARLAND (1965) beobachteten in der Gewebekultur unter Einfluß des Antigens geradezu eine verstärkte Proliferation, d.h. eine Umwandlung von spezifisch-sensibilisierten Lymphocyten in blastenartige Zellen, die sich überdies häufig auch in Mitose befanden. GILLISSEN (1965) glaubt, daß Alttuberkulin spezifisch-sensibilisierte Zellen obligat schädige, eine Zellyse bei Zusatz von gereinigtem Tuberkulin jedoch komplementabhängig sei.

Diese Unstimmigkeiten konnten einmal in verschiedenen Versuchsanordnungen und der unterschiedlichen Herkunft der Lymphocyten (Blut, Milz, Lymphknoten, Peritoneum) begründet sein, zum anderen bestand die Möglichkeit, daß die weißen Blutzellen eines spezifisch-sensibilisierten Menschen oder Versuchstieres je nach der Dosis des der Zellkultur zugeführten Antigens unterschiedlich reagierten. Weiterhin könnte bei gleichen Ausfall des Tuberkulin-Hauttestes bei den Zellspendern ein im Hauttest nicht erkennbarer unterschiedlicher Grad der Überempfindlichkeit vom Tuberkulintyp vorliegen, je nachdem, ob die

* Mit Unterstützung aus Mitteln „Förderung der Krebsforschung“ des Herrn Kultusminister des Landes Nordrhein-Westfalen.

Lymphocyten von aktiv an Tuberkulose Erkrankten oder von klinisch ausgeheilten Tuberkulösen herrührten.

Das Ziel unserer Untersuchungen sahen wir einmal darin, das Verhalten von Blutlymphocyten in der Gewebekultur unter Einfluß unterschiedlich großer Tuberkulindosen zu beobachten und zweitens zu ergründen, ob ein unterschiedliches Verhalten von Lymphocyten in der Zellkultur besteht, je nachdem, ob diese Zellen von aktiv an Tuberkulose Erkrankten mit einer stark positiven Mantoux-Reaktion, von klinisch gesunden Personen (mit ausgeheilter Tuberkulose) mit stark positiver Mantoux-Hautreaktion, von klinisch Gesunden mit einer negativen Mantoux-Hautreaktion oder von Patienten mit einer klinisch gesicherten aktiven Tuberkulose und einem negativen bzw. schwach positiven Hauttest stammten.

Material und Methodik

Versuch I

Die Lymphocytentransformation in der Gewebekultur unter Einfluß verschieden hoher Dosen Tuberkulin GT (Antigen). *Untersuchungsmaterial:* Wir untersuchten in den Zellkulturen unter Einfluß von Tuberkulin das Verhalten der weißen Blutzellen, insbesondere der Lymphocyten von 23 Personen in 4 Versuchsgruppen. Zehn von ihnen waren aktiv an Tuberkulose, vorwiegend Lungentuberkulose erkrankt und wiesen eine positive Mantoux-Hautreaktion bei weniger als 100 IE Tuberkulin GT auf (*Versuchsgruppe 1*). Fünf waren klinisch gesund. Zeigten jedoch einen positiven Tuberkulin-Hauttest bei weniger als 100 IE Tuberkulin GT (*Versuchsgruppe 2*). Bei 5 Kontrollpersonen war der Mantoux-Hauttest selbst bei 1000 IE Tuberkulin GT negativ (*Versuchsgruppe 3*). Drei Personen einer 4. Versuchsgruppe waren an einer klinisch gesicherten aktiven Tuberkulose erkrankt, zeigten jedoch erst bei 1000 IE Tuberkulin GT und mehr einen schwach positiven Mantoux-Hauttest.

Methodik der Gewebekultur. Es wurden jeweils 40 ml heparinisiertes Venenblut entnommen, das zur Sedimentation der roten Blutzellen 1—2 Std in der Entnahmespritze verblieb. 2 ml des überstehenden mit ca. 5000—10000 weißen Blutzellen angereicherten Serums wurden zusammen mit 8 ml Gewebezuchtungsmedium TCM (Difco) in Kulturflaschen gegeben, die mit zehn Deckgläschen ausgelegt waren. (Genaue Technik s. GROPP und FISCHER.) Von jeder Person wurden sieben Kulturen angesetzt, denen neben einem Leerversuch ohne Zusatz von Antigen, Tuberkulin G.T. (Hoechst) in Konzentration von 0,1, 1, 10, 100, 1000 und 10000 IE pro ml Kulturlösung zugesetzt wurde. Die Züchtung der Zellen verlief über 5 Tage. Alle 24 Std wurden jeweils zwei Deckgläschen mit den darauf abgesetzten weißen Blutzellen entnommen und nach PAPPENHEIM gefärbt. Alle Arbeitsgänge erfolgten unter strengen sterilen Bedingungen. Antibiotica wurden nicht zugesetzt.

Auswertung der Kulturen. Um ein Maß für die blastenartige Transformation und für die Mitoserate der Lymphocyten in den Zellkulturen zu erhalten, haben wir von jedem den Kulturen entnommenen Deckgläschen 1000 lymphoide Zellen ausgezählt und den Prozentsatz der blastenartig umgewandelten und der in Mitose befindlichen Lymphocyten bestimmt. Da die stärksten Veränderungen bei Zusatz von 100 I.E. Tuberkulin G.T. nachweisbar waren, wurden nur die Kulturen im Ergebnis berücksichtigt, denen diese Menge Tuberkulin zugefügt worden war.

Versuch II

Die Lymphocytentransformation in der Gewebekultur unter Einfluß von Tuberkulin GT (Antigen) und autologem oder isologem Serum. Da in den Kulturen

unter I stets das patienteneigene Serum mitverwendet wurde, haben wir in einem zweiten Versuchsgang die weißen Blutzellen von aktiv Tuberkulösen mit positivem Tuberkulin-Hauttest bei weniger als 100 IE GT (Versuchsgruppe 1) von dem autologen Serum durch Zentrifugieren und wiederholtem Waschen befreit und mit dem zellfreien Serum von Patienten mit alter ausgeheilten Tuberkulose (Versuchsgruppe 2) in der Kultur gezüchtet (Technik wie bei I). Umgekehrt wurden die gewaschenen weißen Blutzellen von den ausgeheilten Tuberkulösen (Versuchsgruppe 2) mit dem zellfreien Serum von aktiv an Tuberkulose erkrankten Personen (Versuchsgruppe 1) in der Kultur gezüchtet. Alle Kulturen erhielten als Zusatz 100 I.E. GT/ml, da sich bei dieser Tuberkulindosis die höchste Mitose-rate und blastenartige Proliferation der Lymphocyten ergeben hatte.

Ergebnisse

Versuch I

Die gezüchteten weißen Zellen zeigten in den ersten Tagen bei allen Versuchsgruppen ein nahezu gleiches Bild. Schon nach 24 Std finden sich nur noch wenige

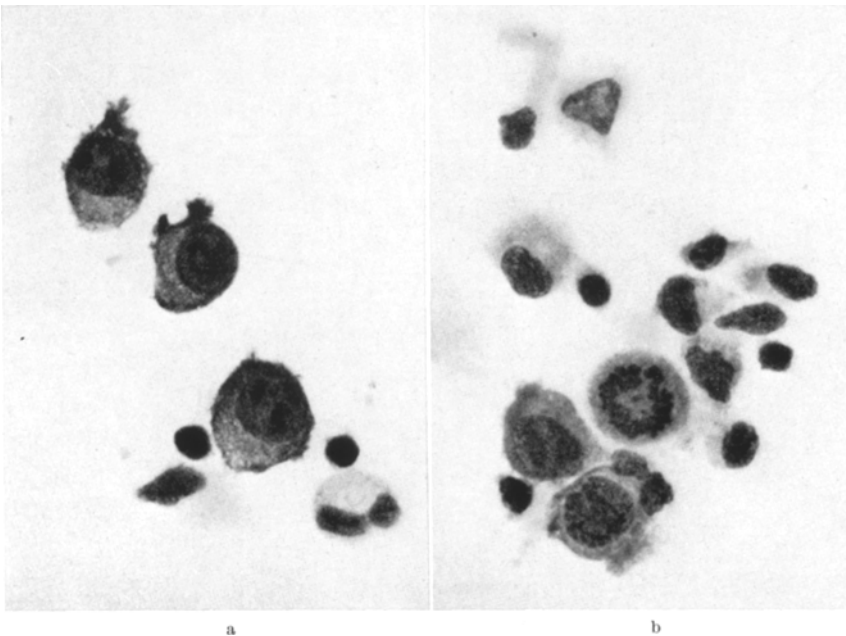


Abb. 1a u. b. Färbung nach PAPPENHEIM: Kultur von weißen Blutzellen 3 Tage nach Ansatz unter Zugabe von 10 mg Tuberkulin GT (Hoechst). Vergr. 640 \times . a Drei blastenartig umgewandelte Zellen mit rundem, chromatindichtem, exzentrisch gelagertem Kern und mehreren großen Kernkörperchen. Dichtes, dunkles und teilweise feinvacuolisiertes Cytoplasma. b Drei große lymphoide Zellen, davon eine in Mitose

typische kleine Lymphocyten. Man erkennt mehr und mehr größere lymphocytenähnliche, fast epitheloide Zellen mit breitem Cytoplasma und bei weiterer Züchtung einen deutlich aufgelockerten, häufig polymorphen Kern. Die neutrophilen Granulocyten gingen in den ersten Tagen zugrunde und waren am 4. Tage nur noch ganz vereinzelt nachweisbar. Dagegen blieben die eosinophilen Leuko-

cyten etwas länger erhalten. Dieser Befund deckt sich mit den Untersuchungen von GROPP und FISCHER (1964), die das Verhalten der weißen Blutzellen in der Gewebekultur, insbesondere unter Einfluß von Phytohämagglutinin, verfolgt haben.

Die ersten Unterschiede im Verhalten der gezüchteten Leukocyten innerhalb der 4. Versuchsgruppe traten am 3. Züchtungstage auf. Während die weißen Blutzellen von den Mantoux negativen Personen (Versuchsgruppe 3) und von

Tabelle 1. *Leukocytenkulturen von Personen mit aktiver Tuberkulose (Pt.) (Versuchsgruppe 1) und einem positiven Mantoux-Hauttest bei 100 und weniger IE Tuberkulin GT*

Züchtungsmedium: 8 ml TCM 199 (Difco)		
2 ml autologes Serum		
100 IE Tuberkulin GT/ml		
Versuchsperson	Tag der Zell- entnahme	% blastenartig umge- wandelte Zellen (%) in Mitose befind- liche Zellen
Pt. 1	3.	3,6 (0,4)
	4.	4,0 (—)
Pt. 2	3.	4,4 (—)
	4.	3,6 (—)
Pt. 3	3.	4,0 (—)
	4.	5,2 (—)
Pt. 4	3.	2,0 (—)
	4.	3,0 (—)
Pt. 5	3.	1,2 (—)
	4.	2,6 (—)
Pt. 6	3.	4,5 (0,4)
	4.	4,2 (—)
Pt. 7	3.	2,4 (—)
	4.	4,6 (—)
Pt. 8	3.	2,8 (0,1)
	4.	3,4 (—)
Pt. 9	3.	2,4 (—)
	4.	4,2 (0,2)
<i>Durchschnittswerte</i>		
	3.	3,0 (0,1)
	4.	3,8 (0,04)
Pt. 10	3.	6,2 (0,1)
	4.	6,0 (0,1)

den Personen mit aktiver Tuberkulose und nur schwach positivem Tuberkulin-Hauttest (Versuchsgruppe 4) weiterhin bei allen Tuberkulinkonzentrationen keine besonderen Veränderungen zeigten, konnte in den Kulturen der bei weniger als 100 IE GT Mantoux positiven Personen sowohl bei den aktiv an Tuberkulose Erkrankten (Versuchsgruppe 1) wie auch bei den klinisch ausgeheilten Tuber-

kulösen (Versuchsgruppe 2) eine Transformation einzelner Lymphocyten in blastenartige Zellen beobachtet werden. Diese wiesen einen locker strukturierten Kern mit meist einem, manchmal auch 2—3, etwas unregelmäßig gestalteten Nucleolen auf. Hin und wieder befanden sich diese blastenartigen Zellen in Mitose (Abb. 1). Diese gelegentlich in Mitose befindlichen, proliferierten Lymphocyten konnten jedoch nur in den Kulturen nachgewiesen werden, in denen Tuberkulin in der Dosierung von 10, 100 und 1000 IE GT pro ml Gewebezüchtungsmedium zugefügt worden war, wobei die stärksten Veränderungen bei 100 IE beobachtet wurden. Dagegen zeigte sich in den Kulturen dieser beiden bei weniger als 100 IE GT Mantoux positiven Versuchsgruppen (1 und 2) mit 10000 IE GT ein ganz anderes Bild. Hier machte sich deutlich ein hemmender Effekt dieser hohen Tuberkulindosis auf das Zellwachstum bemerkbar. Selbst die bereits erwähnte, in allen Kulturen der 4 Versuchsgruppen bis zum 3. Tag nachweisbare Umwandlung der Lymphocyten in epitheliode Zellen mit breitem Cytoplasma und aufgelockertem Kern, war hier nur angedeutet nachweisbar; die

Tabelle 2. *Leukocytenkulturen von Personen mit alter, ausgeheilter Tuberkulose (Pa.) (Versuchsgruppe 2) und einem positiven Mantoux-Hauttest bei 100 und weniger IE Tuberkulin GT*

Züchtungsmedium: 8 ml TCM 199 (Difco)
2 ml autologes Serum
100 IE Tuberkulin GT/ml

Versuchsperson	Tag der Zellentnahme	%blastenartig umgewandelte Zellen (%) in Mitose befindliche Zellen
Pa. 1	3.	4,8 (0,4)
	4.	6,9 (0,2)
Pa. 2	3.	8,4 (0,8)
	4.	9,4 (2,2)
Pa. 3	3.	5,4 (0,2)
	4.	6,8 (0,1)
Pa. 4	3.	5,0 (0,4)
	4.	8,0 (0,6)
Pa. 5	3.	3,6 (0,3)
	4.	5,6 (—)
<i>Durchschnittswerte</i>		
	3.	5,5 (0,34)
	4.	7,3 (0,62)

Lymphocyten blieben klein, behielten ihren chromatindichten Kern und zeigten einen nur schmalen, schwach basophilen Cytoplasmasaum. In den Kulturen der Versuchsgruppen 3 und 4 war ein solcher hemmender Effekt einer hohen Tuberkulindosis (10000 IE GT) auf das Zellwachstum nicht nachweisbar. Alle Zellkulturen mit 0,1 und 1 IE GT sowie die Kulturen ohne Zusatz von GT zeigten keine spezifischen Veränderungen.

Bei der zahlenmäßigen Auswertung der Kulturen mit blastenartig umgewandelten Lymphocyten trat ein deutlicher Unterschied zwischen den Leuko-

cytenkulturen von Personen mit aktiver Tuberkulose (Versuchsgruppe 1) und denen mit alter, ausgeheilte Tuberkulose (Versuchsgruppe 2) zutage. So wiesen die Zellkulturen der Gruppe 1 (Tabelle 1) bei Zusatz von 100 IE GT/ml am 3. Tag im Durchschnitt 3% und am 4. Tag 3,8% blastenartig umgewandelte Zellen auf. Die einzelnen Werte der Kulturen bewegten sich zwischen 1,2—4,5% am 3. Tag und 2,6—5,2% am 4. Tag. Mitosen waren selten zu beobachten.

Auffällig höher war dagegen die Umwandlungsrate der Lymphocyten in der gesondert aufgeführten Kultur des Patienten 10. Hier lagen die Werte am 3. Tag bei 6,2% und am 4. Tag bei 6% blastenartiger Zellen.

Tabelle 3. *Leukocytenkulturen von Personen mit alter, ausgeheilte Tuberkulose (Pa.) und von Personen mit aktiver Tuberkulose (Pt.)*

Züchtungsmedium: 8 ml TCM 199 (Difco)
2 ml autologes oder isologes Serum
100 IE Tuberkulin GT/ml

Versuchsperson		Tag der Zell- entnahme	% blastenartig umgewan- delte Zellen (%) in Mitose befindliche Zellen	
Leukocyten von Pt.	11	3.	2,4	(—)
Serum von Pt.	11	4.	4,0	(—)
Leukocyten von Pt.	11	3.	2,6	(0,1)
Serum von Pa.	6	4.	6,2	(0,2)
Leukocyten von Pa.	6	3.	3,8	(0,4)
Serum von Pa.	6	4.	6,8	(0,2)
Leukocyten von Pa.	6	3.	2,5	(—)
Serum von Pt.	11	4.	4,3	(0,1)
Leukocyten von Pt.	12	3.	3,1	(—)
Serum von Pt.	12	4.	4,4	(—)
Leukocyten von Pt.	12	3.	4,3	(0,1)
Serum von Pa.	7	4.	6,6	(0,2)
Leukocyten von Pa.	7	3.	4,8	(0,4)
Serum von Pa.	7	4.	6,7	(0,2)
Leukocyten von Pa.	7	3.	3,6	(—)
Serum von Pt.	12	4.	4,2	(—)

Es handelte sich hierbei um einen Patienten, der seit 16 Jahren wegen einer Tuberkulose in Behandlung stand. Nach einer vorübergehenden Cavernenblutung verstarb er an einer doppelseitigen Pneumonie. Bei der Obduktion fanden sich mehrere, zum Teil bronchial drainierte Kavernen sowie einige fibrös abgekapselte Käseherde in beiden Lungen. Die genaue histologische Untersuchung der Organe deckte jedoch kein spezifisches tuberkulöses Granulationsgewebe auf. Vielmehr zeigten sich Vernarbungen nach Tuberkulose mit eingeschlossenen Käseresten und eine unspezifische Lobulärpneumonie.

Gegenüber der Versuchsgruppe 1 zeigten die Kulturen mit 100 IE GT/ml in der Versuchsgruppe 2 (Personen mit ausgeheilte alter Tuberkulose und positivem Hauttest bei weniger als 100 IE GT) (Tabelle 2) eine deutlich erhöhte Zahl an blastenartig transformierten Zellen und eine höhere Mitoserate. Die mittlere Zahl der „Blasten“ betrug am 3. Tag 5,5% und am 4. Tag 7,3%. Dabei bewegten sich

die Werte in den einzelnen Kulturen am 3. Tag zwischen 3,6 und 8,4% und am 4. Tag zwischen 5,6—9,4%. Nahezu in allen Kulturen traten vermehrt Mitosen auf (0,1—2,2%).

Versuch II

In allen Fällen, bei denen wir das Serum eines Patienten mit aktiver Tuberkulose und positivem Mantoux-Hauttest bei weniger als 100 IE GT zu der Leukocytenkultur einer an Tuberkulose ausgeheilten Person gegeben hatten, ergab sich ein deutlich hemmender Effekt auf die Umwandlung in blastenartige Zellen und auf die Mitoserate. Umgekehrt war die Rate der blastenartig veränderten Lymphocyten in den Kulturen der aktiv an Tuberkulose Erkrankten deutlich erhöht, wenn anstelle des autologen Serums das Serum eines an Tuberkulose ausgeheilten Patienten der Kultur zugegeben worden war. Deutlich erhöht war hier die Zahl der in Mitose befindlichen Lymphocyten (Tabelle 3).

Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse haben gezeigt, daß unter Einfluß von Tuberkulin in Leukocytenkulturen von Menschen mit aktiver oder auch alter, ausgeheilter Tuberkulose, sofern sie einen positiven Mantoux-Hauttest bei weniger als 100 IE GT aufweisen, eine Transformation einzelner Lymphocyten in blastenartige Zellen stattfindet, wie dies auch von PEARMAIN, LYZZETTE und FITZGERALD (1963), ELVES, ROATH und ISRAEL (1963), COWLING und QUAGLINO (1964) beschrieben wurde. Diese „Blasten“ zeigen eine auffällige Ähnlichkeit mit den sog. basophilen Stammzellen, von denen LENNERT (1961) annimmt, daß sie u. a. auch bei antigener Stimulation auftreten und eine mögliche Rolle bei der Antikörperproduktion spielen. Diese Zellen befinden sich hin und wieder in Mitose. Die Zelltransformation tritt jedoch nur dann auf, wenn den Kulturen Tuberkulin in einer Dosierung von 10, 100 oder 1000 IE GT zugefügt wird, wobei die optimale Menge etwa 100 IE GT/ml Kulturflüssigkeit beträgt. Bei einer Dosierung von 10000 IE GT macht sich dagegen ein deutlich hemmender Effekt auf das Zellwachstum bemerkbar, jedoch nur in den Leukocytenkulturen, die von Personen mit einem positiven Tuberkulin-Hauttest bei weniger als 100 IE GT stammen. Handelt es sich jedoch um die weißen Blutzellen von Personen mit nur schwach positivem Tuberkulin-Hauttest bei 1000 IE GT oder von Personen mit negativem Hauttest, so macht sich weder der hemmende Effekt einer sehr hohen Tuberkulindosis auf das Wachstum der Zellen bemerkbar, noch waren Zelltransformationen und Mitosen zu beobachten, wenn diesen Kulturen Tuberkulin in optimaler Menge zugefügt wurde.

Die zahlenmäßige Auswertung der Kulturen von Personen mit positiven Tuberkulin-Hauttesten bei weniger als 100 IE GT zeigte eine erhöhte Umwandlung und Mitoserate bei Menschen mit alter ausgeheilter Tuberkulose gegenüber den Personen mit aktiver Tuberkulose. Dies ließ vermuten, daß im Serum von Personen mit aktiver Tuberkulose ein Faktor vorliegt, der eine hemmende Wirkung auf die blastenartige Transformation und die Mitoserate lymphoider Zellen ausübt. Der Verdacht bestätigte sich in den Kreuzversuchen, in denen nach Austausch von Serum und Leukocyten in den Versuchsgruppen 1 und 2 (Personen mit aktiver Tuberkulose und Personen mit ausgeheilter, alter Tuberkulose, beide

mit positivem Mantoux-Hauttest bei weniger als 100 IE Tuberkulin) in den Kulturen der Gruppe 1 eine erhöhte Zahl an Blasten und Mitosen zu erkennen waren, wogegen diese Zellumwandlung in den Kulturen der Gruppe 2 deutlich vermindert war. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Untersuchungen von HEILMAN und MCFARLAND (1965), die einen hemmenden Effekt des Serums von aktiv an Tuberkulose Erkrankten auf die Mitoserate von Lymphocyten *in vitro* unter Einfluß von Tuberkulin beobachteten. Von besonderem Interesse ist das Kulturergebnis des Patienten 10. Ein Patient, der 16 Jahre wegen einer Tuberkulose in Behandlung stand und bei der Obduktion und anschließender histologischer Untersuchung kein spezifisches Granulationsgewebe aufwies, bot in der Leukocytenkultur unter Einfluß von Tuberkulin das Bild einer ausgeheilten Tuberkulose.

Die hier aufgezeichneten Versuchsergebnisse mit dem Nachweis eines „Hemm“-Faktors im Serum von Patienten mit einer aktiven Tuberkulose auf *in vitro* gezüchtete Leukocyten unter Einfluß von Tuberkulin mag möglicherweise eine Erklärung dafür bieten, daß bei Personen mit einer aktiven Tuberkulose häufig eine verringerte, celluläre Abwehr besteht. Allerdings setzt dieses Ergebnis voraus, daß die klinische Diagnose mit dem anatomischen Befund in Einklang steht.

Zusammenfassung

In Zellkulturen weißer Blutzellen von aktiv an Tuberkulose erkrankten Personen mit positivem Mantoux-Hauttest bei weniger als 100 IE Tuberkulin GT konnte vom 3. Tag an unter Einwirkung einer optimalen Tuberkulindosis von etwa 100 IE/ml Züchtungsmedium eine Transformation lymphoider Zellen in blastenartige Elemente mit vereinzelt Mitosen beobachtet werden. Deutlich erhöht war diese Umwandlungsrate und die Zahl der Mitosen bei Züchtung weißer Blutzellen von Personen mit alter ausgeheilten Tuberkulose.

In weiteren Versuchen übte das zellfreie Serum aktiv an Tuberkulose Erkrankter einen deutlich hemmenden Effekt auf die Zelltransformation und Mitoserate von Kulturen solcher lymphoider Zellen aus, die von Personen mit ausgeheilten Tuberkulose stammten. Dem Serum von Personen mit ausgeheilten Tuberkulose fehlte dieser hemmende Effekt.

The Demonstration of Cell-Bound Antibodies in Vitro

Summary

In tissue cultures of leucocytes from patients with active tuberculosis and with a positive Mantoux skin reaction with less than 100 IU tuberculin GT, one may observe in three days a transformation of the lymphoid cells to blast forms with isolated mitoses when the culture is treated with the optimal tuberculin dose of about 100 IU/ML of culture medium. The transformation rate and the number of mitoses were clearly increased when the leucocytes from people with old, healed tuberculosis were cultured. In other studies, the cell-free serum from patients with active tuberculosis clearly inhibited the cell transformation and mitosis-rate of cultures of lymphoid cells that were obtained from people with old, healed tuberculosis. On the other hand, the serum from people with old, healed tuberculosis lacked this inhibitory effect.

Literatur

- COWLING, D. C., and D. QUAGLINO: Effect of antigen mixtures on blastic transformation in leucocyte cultures. *Lancet* **1964****I**, 117.
- ELVES, M. W., S. ROATH, and M. C. G. ISRAELS: The response of lymphocytes to antigen challenge in vitro. *Lancet* **1963****I**, 806.
- FAVOUR, C. B.: Lytic effect of bacterial products on lymphocytes of tuberculous animals. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **65**, 269 (1947).
- GILLISSEN, G.: Immunologische Grundlagen der allergischen Spätreaktion. *Klin. Wschr.* **43**, 11, 590—597 (1965).
- GROPP, A., u. R. FISCHER: Untersuchung zur Phytohämagglutinin-stimulierten Umwandlung von menschlichen Blutlymphocyten zu blastenartigen Zellen. *Virchows Arch. path. Anat.* **338**, 64—77 (1964).
- HEILMAN, D., and W. McFARLAND: Inhibition of tuberculin-induced mitogenesis in lymphocyte cultures by serum from tuberculous donors. *Fed. Proc.* **24**, 2, 182 (1965).
- HOLST, P. M.: Studies on the effects of tuberculin. *Tubercle (Edinb.)* **3**, 249, 289, 337 (1922).
- LAWRENCE, S. H.: The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M-substance and to tuberculin with disrupted leukocytes. *J. clin. Invest.* **34**, 219—230 (1955).
- LENNERT, K.: Lymphknoten. Cytologie und Lymphadenitis. In: *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie*, Bd. I/3, Bandteil A. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1961.
- PEARMAIN, G., R. R. LYCETTE, and R. H. FITZGERALD: Tuberculin-induced mitosis in peripheral blood leucocytes. *Lancet* **1963****I**, 637.
- RAFFEL, S.: Delayed hypersensitivities. *Progr. Allergy* **4**, 173 (1954).
- RICH, A. R., and M. R. LEWIS: The nature of allergy in tuberculosis as revealed by tissue culture studies. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **50**, 115 (1932).
- SCHMIDT, F.: Die Tuberkulincytolese. *Beitr. Klin. Tuberk.* **109**, 151 (1953).
- WAKSMAN, B. H.: Studies of cellular lysis in tuberculin sensitivity. *Amer. Rev. Tuberc.* **68**, 746 (1953).

Dr. med. H. SCHÄFER, Dr. med. H. WUTKE
und Prof. Dr. med. O. HAFFERKAMP
Pathologisches Institut der Universität Bonn
53 Bonn I, Venusberg