

**Zeitschrift:** Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

**Band:** 21 (1965)

**Artikel:** Über die Zirkulation antikörperbildender Zellen

**Autor:** Sorkin, Ernst / Hulliger, Lotte

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-307608>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 06.10.2024

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

Schweizerisches Forschungsinstitut, Medizinische Abteilung, Davos-Platz/Schweiz

## Über die Zirkulation antikörperbildender Zellen<sup>1</sup>

Von Ernst Sorkin und Lotte Hulliger

Es ist heute unbestritten, daß Plasmazellen und ihre Vorstufen innerhalb der lymphatischen Organe Antikörper bilden. Die Bedeutung der kleinen Lymphocyten in der Antikörperbildung ist jedoch nach wie vor Gegenstand der Diskussion.

Gowans u. Mitarb. [1] haben zwar eindeutig nachgewiesen, daß unter den Lymphocyten des Ductus thoracicus und unter den Blutleukocyten immunologisch kompetente Zellen auftreten, d. h. Zellen, die fähig sind, bei passiver Übertragung eine Homotransplantationsreaktion oder eine verzögerte Überempfindlichkeitsreaktion einzuleiten. Damit ist aber die Frage noch nicht geklärt, ob die kleinen Lymphocyten selbst Antikörper synthetisieren oder vielmehr erst nach weiterer Differenzierung im neuen Wirtsorganismus zu Antikörperbildnern werden.

Wesslén [2] hat gezeigt, daß Ductus-thoracicus-Lymphzellen nach Inkubation *in vitro* Antikörper abgeben, und nahm an, daß dabei die kleinen Lymphocyten Antikörper synthetisieren.

Nun haben Untersuchungen an hyperimmunisierten Kaninchen ergeben, daß ein variabler, manchmal beträchtlicher Prozentsatz der Blutleukocyten aus Plasmazellen und Vorstufen besteht und diese zirkulierenden Zellen Antikörper synthetisieren [3]. Weiterhin wurde nachgewiesen, daß Lymphocyten und andere Leukocyten Antikörperträger sein können. Zellgebundener Antikörper kann während Inkubation *in vitro* bei 37° C freigesetzt werden [4]. Die Frage stellt sich deshalb, ob bisherige Untersucher zellgebundenen, freigesetzten oder aber *de novo* synthetisierten Antikörper gemessen haben.

Zur Beantwortung dieser Frage ist die Kombination dreier Methoden notwendig, von denen die eine ausschließlich *de novo* synthetisierten Antikörper, die zweite den an der Zelloberfläche fixierten, zellgebundenen

<sup>1</sup> Diese Arbeit wurde mit Mitteln des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt, Gesuch Nr. 2635.

Antikörper und die dritte den im Serum vorhandenen Antikörper mit hoher Affinität für Zellen, sogenannten cytophilien Antikörper, mißt. Zur Lösung aller drei Fragestellungen wurden ihrer relativen Einfachheit und Empfindlichkeit wegen Isotopenmethoden verwendet.

### Material und Methodik

#### 1. Messung der Antikörpersynthese mit $C^{14}$ -Aminosäure-Inkorporation

Die Methode zur Messung der Antikörpersynthese wurde früher beschrieben [3, 5] und ist im wesentlichen unverändert verwendet worden. Das Prinzip der Methode wird in Abb. 1 wiedergegeben.

Organfragmente oder Zellsuspensionen wurden zusammen mit  $C^{14}$ -Aminosäuren während 3 Std. bei  $37^{\circ}C$  inkubiert. Anschließend wurden die neugebildeten  $C^{14}$ -Antikörper in der Inkubationsflüssigkeit zusammen mit genügend spezifischem «kaltem» Träger-Antigen-Antikörper-Komplex isoliert. Die Radioaktivität des gründlich gewaschenen Präzipitates wurde im Methangasdurchflußzähler gemessen.

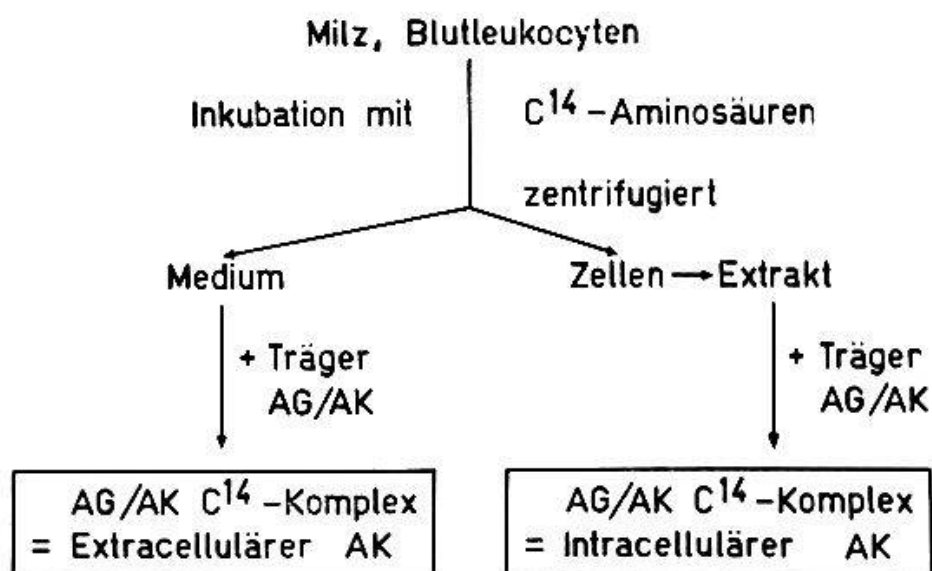


Abb. 1. Technik zur Antikörpersynthese in vitro

#### 2. Messung von zellgebundenem und zellbindendem Antikörper mit Hilfe von radioaktiv ( $I^{131}$ ) markiertem Antigen (HSA)

a) *Zellgebundener Antikörper.* Zellsuspensionen der mit Human-Serum-Albumin (HSA) immunisierten Kaninchen wurden auf ihre Fähigkeit, das spezifische Antigen in radioaktiver Form ( $I^{131}$ -HSA) zu adsorbieren, untersucht. Eine Zellsuspension von  $50-80 \times 10^6$  Zellen wurde mit  $0,5 \mu g$  des markierten Antigens bei  $37^{\circ}C$  inkubiert. Die Radioaktivität der anschließend gewaschenen Zellen wurde bestimmt. Die Radioaktivität der Zellen von immunisierten Tieren gegenüber denjenigen von Kontrolltieren dient als Maß für zellgebundenen Antikörper. Technische Details der Methode wurden an anderer Stelle beschrieben [5].

b) *Zellbindender oder cytophiler Antikörper* [6, 7] wurde entsprechend dem folgenden Schema gemessen: Abb. 2.

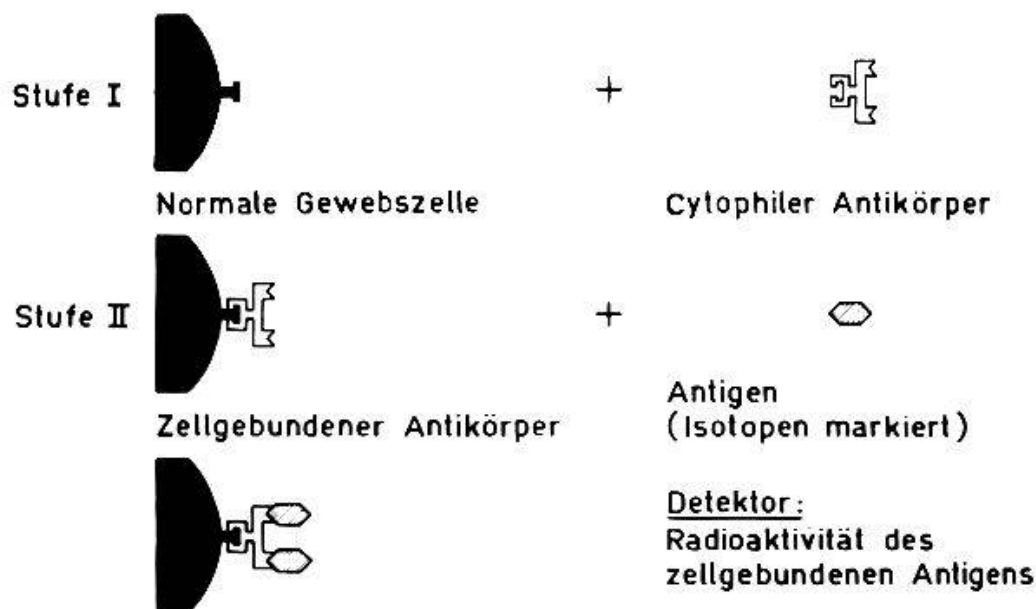


Abb. 2. Test für cytophilen Antikörper

Normale Zellen, z. B. Blutleukocyten oder Milzzellsuspensionen, wurden mit Immunserrum inkubiert, die Zellen gewaschen und dann wie unter a) der jetzt zellgebundene Antikörper in Wechselwirkung mit Antigen gebracht.

### 3. Cytologische Untersuchungen

Ausstriche der verschiedenen Zellsuspensionen wurden mit May-Grünwald-Giemsa oder mit Methylgrün-Pyronin gefärbt.

### 4. Tiere

Ausgewachsene Kaninchen (2000–3000 g) beider Geschlechter wurden verwendet.

### 5. Immunisierung

Die Kaninchen erhielten 8 intravenöse Injektionen von je 1 ml Humanserum. Nach einer Ruhepause von 6–12 Wochen wurde eine intravenöse «Booster-Dosis» von 1 ml Antigen verabreicht. Frühere Ergebnisse [5] haben gezeigt, daß unter diesen Bedingungen maximale Antikörperproduktion durchschnittlich 4–5 Tage nach der «Booster-Injektion» meßbar ist. Dementsprechend wurde der Ductus thoracicus am 4.–5. Tage nach der «Booster-Injektion» kanüliert, und anschließend wurden Zellsuspensionen von Milz, Lymphknoten, Lymphe und Buffy-Coat hergestellt.

### 6. Radioaktive Präparate

$C^{14}$ -Aminosäuren (Algen-Protein-Hydrolysat) und  $I^{131}$ -Human-Serum-Albumin wurden vom Radiochemical Centre, Amersham, Buckinghamshire, England, bezogen.

## Resultate

### 1. Antikörpersynthese

Die Resultate einer ersten Reihe von Versuchen, in denen Antikörpersynthese in Blutleukocyten, Milz und Lymphknotenzellen bestimmt wurden, sind in Tabelle 1 dargestellt. Sie zeigen, daß 4 Tage nach einer «Booster-Injektion» beträchtliche Antikörpersynthese nicht nur in

Tabelle 1  
Antikörpersynthese in vitro durch Blutleukocyten, Milz und Lymphknotenzellen

Zellen	Zahl der Leukocyten  × 10 <sup>6</sup>	Zahl der Plasmazellen und Plasmoblasten  %	Antikörper- synthese  Impulse/min
Immune Blutleukocyten	40-66	4,5-9	2897 4751
Immune Milz .....	80	26,5-43	6171 32651
Immune popl. Lymphknoten.....	80	9,0-15	2070 26489
Normale Kontrollen ...	50-84	0-5	164 394

4 immune Kaninchen, 4 normale Kaninchen.

Zellen der lymphatischen Organe, Milz und Lymphknoten, sondern auch in Blutleukocyten nachweisbar ist. Die cytologische Analyse ergab, daß die Blutleukocyten immunisierter Kaninchen eine relativ hohe Zahl Plasmazellen und Plasmoblasten enthalten.

In einer weiteren Serie von Experimenten wurde der Ductus thoracicus in 11 immunisierten und 4 Kontrollkaninchen kanüliert. Die Werte für C<sup>14</sup>-Antikörper-Synthese sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Milzzellen produzierten Antikörper mit Radioaktivitätswerten zwischen 600-12 000 Imp./min, wobei 2 der 11 Tiere sehr hohe Werte (über 6000 Imp./min) ergaben. 2 weitere Tiere hatten Werte zwischen 2000 und 4000 Imp./min. Die anderen Kaninchen gaben Werte, die nur wenig über diejenigen der Kontrolltiere lagen.

Antikörpersynthese wurde in geringerem Umfang auch bei Lymphzellen und bei Blutleukocyten nachgewiesen. Die Werte für einzelne Tiere schwankten ebenfalls beträchtlich. Die beiden Tiere mit hoher Anti-

Tabelle 2  
Antikörpersynthese in vitro durch Ductus-thoracicus-Zellen, Blutleukocyten und Milz

Zellen	Zahl der Leukocyten  × 10 <sup>6</sup>	Zahl der pyroninophilen Zellen  %	Antikörper- synthese  Impulse/min
Immune Ductus- thoracicus-Zellen ....	54-80	2-6	157 2342
Immune Blutleukocyten	57-87	0-8	170 2955
Immune Milz .....	60-80	4-23	593 12000
Normale Kontrollen ...	55-80	0-6	165 230

11 immune Kaninchen, 5 normale Kaninchen.

körpersynthese in den Milzzellen hatten auch die höchsten Werte für Ductus-thoracicus-Lymph und Buffy-Coat. Die Zahl der pyroninophilen Zellen (Plasmazellen und Plasmoblasten) war in der Milz beträchtlich, in Ductuslymph und Buffy-Coat nur teilweise erhöht gegenüber Kontrollen. In den einzelnen Versuchen konnte keine direkte Beziehung zwischen dem Umfang der Antikörpersynthese und der Zahl der pyroninophilen Zellen festgestellt werden.

## 2. Zellgebundener Antikörper

Ductus-thoracicus-Zellen adsorbierten beträchtliche Mengen des radioaktiven Antigens (Tab. 3). In einem Falle adsorbierten Ductuszellen sogar mehr als die Milzzellen des gleichen Tiers.

Tabelle 3  
Zellgebundener Antikörper in Ductus-thoracicus-Zellen

Zellen	Zelladsorbiertes Antigen $I^{131}$ -HSA Impulse/min
Immune	34–6646
Normale	35–46

21 immune Kaninchen, 5 normale Kaninchen.

Auch an Blutleukozyten konnte zellgebundener Antikörper nachgewiesen werden (Tab. 4) [siehe auch 8].

Tabelle 4  
Zellgebundener Antikörper im Kaninchenblut\*

Blutleukozyten	Zelladsorbiertes Antigen ( $I^{131}$ -HSA) Impulse/min
Immune	164–5263
Normale	33

\* 5 Tage nach «Booster-Injektion».

## 3. Cytophiler Antikörper

Die Werte für cytophilen Antikörper im Serum der immunisierten Tiere waren relativ niedrig (Tab. 5). Von einem Fall (225 Imp./min) abgesehen, lagen die Werte unter 100 Imp./min.

Tabelle 5  
Bindung von cytophilem Antikörper an normale Kaninchen-Blutleukocyten und Erythrocyten

Zellen	Zelladsorbiertes Antigen <sup>131</sup> I-HSA Impulse/min
Leukocyten $40 \times 10^6$	7-225
Erythrocyten $5 \times 10^8$	7-22

Alle Kontrollen mit Normalserum: 7-21 Impulse/min.

### *Diskussion*

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Blutleukocyten und Ductus-thoracicus-Zellen von hyperimmunisierten Kaninchen Antikörper synthetisieren in einem von Tier zu Tier variablen Umfang. Wenn man eine Berechnung über die totale Antikörperproduktion von Blutleukocyten vornimmt, ergibt sich, daß die Antikörperproduktion durch Blutzellen etwa derjenigen der Milz entspricht.

Unsere Befunde werfen eine Reihe von Fragen auf. Wurden die antikörperbildenden Zellen im Blut durch das Antigen zur Antikörperproduktion in der Zirkulation stimuliert? In diesem Zusammenhang sind die zahlreichen neueren Arbeiten über die Transformation von humanen peripheren Lymphocyten *in vitro* unter dem Einfluß verschiedener Agentien zu erwähnen, wie z. B. von Phytohämagglutinin, spezifischem Antigen, Anti-Leukocyten-Serum usw. Zumindest im Falle des Phytohämagglutinins wurde gezeigt, daß die gebildeten Blastzellen  $\gamma$ -Globulin produzierten [9]. Diese Untersuchungen geben somit Hinweise, daß in peripheren Zellen grundsätzlich die Fähigkeit vorgegeben ist, auf einen geeigneten Stimulus mit Globulin- eventuell Immunoglobulinproduktion zu reagieren.

Die vorliegenden eigenen Untersuchungen lassen vorläufig keinen Schluß zu, ob Leukocyten in der Zirkulation zur Antikörperbildung angeregt wurden. Andererseits ist es schwierig zu verstehen, daß bis zu etwa 10% der Blutleukocyten, die an der Antikörperproduktion teilnehmen, von der Milz und anderen lymphatischen Organen ausgewandert sein sollten. Es werden weitere Untersuchungen notwendig sein, den Ursprung und das Schicksal der zirkulierenden antikörperproduzierenden Zellen zu bestimmen.

Die Arbeiten von *Gowans* und anderen Autoren [10] haben gezeigt, daß Lymphocyten einer erheblichen Wanderung via Lymphe, Blut und lymphoide Organe unterworfen sind. Die vorliegende Arbeit unterstreicht, daß antikörperbildende Zellen eine ähnliche Mobilität aufweisen und sie dementsprechend, wenn einmal in die Zirkulation gelangt, zu den entferntesten Bereichen transportiert werden können. Das Auffinden von antikörperproduzierenden Zellen, sei es mit Hilfe der Immunofluoreszenzmethode, der Inkorporation von  $C^{14}$ -Aminosäuren in Immunglobuline, der Autoradiographie oder durch die lokalisierte Hämolyse, sollte nicht unbedingt dahin interpretiert werden, daß diese Antikörperproduktion daselbst entstanden sei. Transportmechanismen sollten in Erwägung gezogen und daher zusätzliche Beweise geführt werden, bevor der Schluß gezogen wird, daß Antikörperbildung auch in nicht-lymphatischen Geweben ihren Anfang nehmen kann.

Die Frage, welcher Zelltyp in der Ductus-thoracicus-Lymphe und im peripheren Blut Antikörper synthetisiert, konnte nicht eindeutig beantwortet werden. Die Antikörperproduktion ließ sich nicht direkt mit der Zahl der pyroninophilen Zellen in Beziehung bringen. Es ist jedoch äußerst unwahrscheinlich, daß die große Zahl der kleinen Lymphocyten in der Ductuslymphe Antikörper bildet, sondern daß viel eher der im Vergleich zur Milz niedrige Prozentsatz an Plasmazellen und Vorstufen dafür verantwortlich ist.

Zellgebundener Antikörper konnte in beträchtlichem Umfang an Blutleukocyten und Lymphzellen immunisierter Kaninchen nachgewiesen werden. Wenn man damit die relativ niedrigen Werte von passiv *in vitro* an Blutleukocyten gebundenen cytophilen Antikörper vergleicht, so scheint es, daß der nachgewiesene zellgebundene Antikörper zur Hauptsache nicht durch passive Adsorption aus dem umgebenden Milieu zustande kommt. Die Hauptmenge des zellgebundenen Antikörpers ist wahrscheinlich auf antikörperbildende Zellen zurückzuführen [8].

Eine ausführliche experimentelle Arbeit wird an anderer Stelle erscheinen (*Hulliger* und *Sorkin* [in Vorbereitung]).

### *Zusammenfassung*

1. De-novo-Synthese von Antikörper durch Blutleukocyten und Ductus-thoracicus-Zellen von hyperimmunisierten Kaninchen wurde mit Hilfe der Inkorporation von  $C^{14}$ -Aminosäuren in neugebildetem Antikörper untersucht. Blutleukocyten und Lymphzellen produzieren signifikante, von Tier zu Tier variable Mengen von Antikörper *in vitro*.



2. Zellgebundener Antikörper, gemessen durch Fixation von  $I^{131}$ -markiertem Antigen, wurde sowohl in Lymphzellen als auch in Blutleukozyten nachgewiesen.

3. Cytophiler Antikörper wurde im Serum der Kaninchen bestimmt.

4. Auf Grund der cellulären Zusammensetzung scheint es bedeutend wahrscheinlicher, daß die kleine Zahl pyroninophiler Zellen (Plasmazellen und Vorstufen) und nicht die große Zahl der kleinen Lymphocyten für Antikörpersynthese verantwortlich sind.

5. Der zellgebundene Antikörpergehalt ist vor allem durch die antikörperbildenden Zellen bedingt.

6. Die Bedeutung zirkulierender antikörperbildender Zellen wird diskutiert.

### Résumé

1. Des lapins ont été hyperimmunisés avec des injections intraveineuses de sérum humain. Quatre jours après une injection de rappel les leucocytes du sang et les cellules du ductus thoracicus ont été collectionnés et incubés avec des acides aminés marqués au  $C^{14}$ .

2. La synthèse d'anticorps *de novo* a été mise en évidence *in vitro* dans les leucocytes sanguins ainsi que dans les cellules du ductus thoracicus.

3. Au moyen de la fixation de l'antigène (HSA) marqué au  $I^{131}$ , on a mesuré l'activité des anticorps fixés aux leucocytes sanguins et aux cellules lymphatiques.

4. En considérant la structure cellulaire, il semble que la synthèse des anticorps a lieu dans les cellules pyroninophiles (cellules plasmatiques et leur stades antérieurs) plutôt que dans la multitude des petits lymphocytes.

5. Les auteurs discutent de l'importance des cellules en circulation capables de produire d'anticorps.

### Riassunto

1. Legando aminoacidi marcati al  $C^{14}$  con anticorpi neoformati, fu studiata la neoformazione di anticorpi mediante leucociti e cellule del dotto toracico di conigli iperimmunizzati. I leucociti e le cellule linfatiche producono *in vitro* quantità di anticorpi significanti e variabili a seconda dell'animale.

2. Mediante fissazione di un antigene marcato col  $I^{131}$  si poterono mettere in evidenza degli anticorpi fissati, sia nelle cellule linfatiche che nei leucociti.

3. Nel siero del coniglio si evidenziarono degli anticorpi citofili.

4. Secondo ricerche citologiche sembra molto probabile che la respon-

sabilität der Bildung von Antikörpern inkommt vielmehr der Anzahl von pyroninophilen (Plasmazellen und jüngere Zellen) als der Anzahl der kleinen Lymphocyten.

5. Die Menge von Antikörpern in Zellen hängt mehr als alles andere von den Zellen ab, die Antikörper produzieren.

6. Es wird die Wichtigkeit der im Blut zirkulierenden Zellen, die Antikörper bilden können, diskutiert.

### Summary

1. Rabbits were hyperimmunized with human serum by intravenous injections. Blood leucocytes and thoracic duct cells were obtained 4 days after a booster injection and these cells incubated with  $C^{14}$ -amino acids.

2. *De novo* synthesis of antibody *in vitro* by blood leucocytes and thoracic duct cells was demonstrated.

3. Cell-bound antibody on lymph cells and on blood leucocytes could be measured by fixation of specific  $I^{131}$ -antigen.

4. Based on the cellular composition it is concluded that pyroninophilic cells (plasma cells and precursors) and not the large number of lymphocytes are responsible for antibody production.

5. The significance of circulating antibody-producing cells was discussed.

1. Gowans J. L., McGregor D. D., Cowen D. M. und Ford C. E.: *Nature (Lond.)* 196, 651 (1962). – 2. Wesslén T.: *Acta dermat.-venereol. (Stockh.)* 32, 195 (1952). – 3. Hulliger L. und Sorkin E.: *Nature (Lond.)* 198, 299 (1963). – 4. Blazkovec A. A. und Sorkin E.: Nicht veröffentlichte Versuche. – 5. Sorkin E., Rhodes J. M. und Boyden S. V.: *J. Immunol.* 86, 101 (1961). – 6. Boyden S. V. und Sorkin E.: *Immunology* 3, 272 (1960); 4, 244 (1961). – 7. Sorkin E., in: *The immunologically competent cell. Its nature and origin.* Ciba Foundation Study Group No. 16, pp. 38–53. J. & A. Churchill, London 1963. – 8. Sorkin E.: *Nature (Lond.)* 204, 794 (1964). – 9. Hirschhorn K., Bach F., Kolodny R. L., Firschein I. L. und Hashem N.: *Science* 142, 1185 (1963). – 10. Florey H. W. und Gowans J. L., in: *General Pathology* (Ed.: H. W. Florey), p. 128. Lloyd-Luke Ltd., London 1962.

### Diskussion:

E. F. Pfeiffer (Frankfurt) schildert kurz Übertragungsversuche der experimentellen Glomerulonephritis der Ratte (Masugi-Nephritis) mittels Parabiose, Koltiz-Transfusion, Plasma-I-Zellen-Übertragung, bei denen nur periphere Leukocyten, Lymphocyten aus dem Ductus thoracicus, aber nicht Lymphknotenzellen (mit Ausnahme periveneraler) aktiv waren. Da bei der Ratte 70% der peripheren Leukocyten Lymphocyten sind und weiter der Ductus thoracicus nur Lymphocyten enthält, steht das etwas im Gegensatz zu Dr. Sorkins Meinung, daß die Leukocyten (Granulocyten?) Antikörper bilden.

E. Sorkin (Davos): Eine Reihe von Autoren hat gezeigt, daß Ductus-thoracicus-Zellen und Blutleukocyten im Sinne der Lymphocyten nicht den Lymphknotenzellen gleichgestellt werden können. Weiterhin findet mit großer Wahrscheinlichkeit eine Veränderung der Lymphocyten in pyroninophile Zellen statt (Gowans). Granulocyten produzieren mit Sicherheit keine Antikörper.