

細胞内寄生性細菌に対する感染防御

—遅延型過敏反応と防御発現—

新潟大学医学部細菌学教室 光 山 正 雄

Host defense against infection with facultative
intracellular bacteria : delayed-type hypersensitivity
and the expression of immunological defense

Masao MITSUYAMA

Department of Bacteriology, Niigata University School of Medicine

The mechanisms of host defense against infection with *Listeria monocytogenes*, one of the intracellular bacteria, were discussed mainly in terms of the relation between delayed-type hypersensitivity (DTH) and the expression of immunological defense.

In mice immunized with viable *L. monocytogenes*, the kinetics of appearance and the degree of DTH coincided well with that of immunological defense. However, lymphocytes from killed bacteria-immune mice were shown to be capable of transferring DTH without an association with enhanced resistance, while lymphocytes from mice immunized with viable bacteria transferred both DTH and immunological defense. This result suggested the dissociation of DTH and antibacterial defense in T cell level. The possible explanation for this finding was presented and the contribution of macrophages and several lymphokines to the expression of host defense was also discussed.

Key words: facultative intracellular bacteria, *Listeria monocytogenes*,
acquired cellular resistance, delayed-type hypersensitivity.
細胞内寄生性細菌, リステリア, 細胞性獲得抵抗性,
遅延型過敏反応.

Reprint requests to: Masao MITSUYAMA,
Department of Bacteriology,
Niigata University School of Medicine
1-757, Asahimachi-dori, Niigata 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1 757
新潟大学医学部細菌学教室 光山正雄

1. はじめに

細胞内寄生性細菌 (facultative intracellular bacteria) とは、分類細菌学上の用語ではなく、感染のある段階で食細胞とくにマクロファージに貪食された後も細胞内で生存するまたは増殖する菌の総称であり、ライ菌、結核菌、サルモネラ、リステリア、ブルセラなどが挙げられる。この種の菌は正常食細胞による細胞内殺菌に抵抗して宿主内で長期に亘り生存し、結果的に慢性感染をひき起こすことが多い。

1950年代までは、細菌感染に対する防御免疫は全て抗体に依存するいわゆる液性免疫によるものと考えられていた。これに対し、細胞内寄生性細菌に対する感染防御免疫は抗体に依存せず、T細胞依存性のいわゆる細胞性免疫によって担われることを示したのが Mackaness らである。彼らはマウスにおけるリステリア (*Listeria monocytogenes*) 感染をモデルとして、細胞性免疫防御の概念を確立し、その誘導は抗原特異的であり、T細胞によって担われるが、防御発現は抗原特異性のない、いわゆる活性化マクロファージによること、抗体は何ら防御に関与しないこと、また免疫防御は遅延型過敏反応 (DTH: delayed-type hypersensitivity) と密接な関係にあることなどを明らかにした^{1) 2) 3) 4)}。

以来、結核菌、リステリア、サルモネラなどを用いた感染実験が主にマウスを用いて行われ、細胞内寄生性細菌に対する免疫防御機構の解析がなされてきた。しかし今なお、感染防御に関与するT細胞の本態、とくにDTHを担うT細胞との異同や、防御発現の機序、さらに細胞内寄生性細菌に共通にみられる死菌ワクチンの無効性の機序など、感染防御機構の本質に関する重要な問題が明確にされていないのが現状である。ここでは、リステリアのマウス感染実験によって著者らが得た成績を中心に、これらの問題について述べてみたい。

2. リステリア感染防御とマクロファージ

マウスにリステリアを静注感染させると、肝に90%、脾に10%の細菌が取り込まれ、肝ではその後6時間までの間に約10%に減少する。しかし以後肝、脾で菌は対数的増殖を示し、3~4日目にピークの菌数に達する。この感染初期の臓器内菌数の変動は先天的胸腺欠損ヌードマウスを用いても大差をみないことから、この間の防御に免疫が関与しないことが知られる⁵⁾。静注感染後6時間までの肝における一過性の菌数減少は、マウスの遊離食細胞を減少抑制するX線全身照射に影響を受けず、マクロファージ系細胞のみを抑制するカラギーナン投与で消失することから、肝 Kupffer 細胞の作用であると考

えられた。また引き続く肝、脾での菌増殖もカラギーナン投与で促進されることから、遊離マクロファージがある程度抗菌的に働いていることが示唆された⁶⁾。致死量以下の菌数による感染では、通常4日目以降臓器内菌数の減少がみられるようになり、1週から10日で完全排除されるが、ヌードマウスでは4日目以降も菌の排除傾向は全くみられないので⁵⁾、この時期から特異的細胞性免疫が関与すると考えられる。

免疫成立以前の初期防御に、Kupffer 細胞や遊離マクロファージなどがある程度抗菌的に作用していることは、やはり細胞内寄生性細菌である *Salmonella typhimurium* 感染においても、初期の菌増殖がカラギーナンで促進されることから知られている⁷⁾。これとは対象的に、食細胞内殺菌に抵抗し得ない細胞外増殖性の *Pseudomonas aeruginosa*⁸⁾、*Klebsiella pneumoniae*⁹⁾、*Escherichia coli*¹⁰⁾ などに対する初期防御はカラギーナンでマクロファージを抑制しても全く低下せず、X線全身照射による顆粒球も含めた食細胞不全状態で初めて低下するので、細胞外増殖性の通常細菌に対しては多核白血球が重要な防御因子と考えられる。

リステリアに対するマクロファージの作用は、*in vivo* のみでなく *in vitro* でも、マウス腹腔より得たマクロファージと多核白血球のリステリアに対する抗菌力を比較すると、マクロファージがより高い抗菌力を示すことから明らかである⁸⁾。

初感染早期に正常マクロファージがある程度の防御を発揮することから、マクロファージの機能変動によりリステリアに対する初期防御能もかなり変動する。老齢マウス^{11) 12)} や妊娠マウス^{13) 14)} では、特異的細胞性免疫応答が低下しているにも拘らず、代償的にマクロファージ機能は亢進しており、そのためリステリアに対して正常マウスよりも高い初期防御を示す。また、マウスのマクロファージ機能、殊に細胞内殺菌能や活性酸素生成能は生下後は極めて低く、週令とともに発達して成熟レベルに近付くが、これと平行して *in vivo* でのリステリアにたいする初期防御能も発達するのがみられる^{15) 16)}。これらのことから、リステリアを初めとする細胞内寄生性細菌に対する防御は、食細胞の中でもとくにマクロファージに依存していると考えられている。

3. 感染防御に働くT細胞と遅延型過敏反応 (DTH)

リステリア初感染後期にみられる臓器内生菌の完全排除、および初感染を耐過したいわゆる生菌免疫動物での再感染に対する抵抗性は、細胞性獲得抵抗性 (ACR: acquired cellular resistance) と呼ばれ、表1に示すよ

表 1 細胞性獲得抵抗性 (ACR) の特徴

1. 同一細菌による再感染に対し、菌排除の促進や LD ₅₀ の著明な上昇を示す。	
2. 抗原特異的なT細胞に依存する。	
3. エフェクターは(活性化)マクロファージである。	
4. 一般に特異抗原に対するDTHの出現と一致する。	
5. ACRの成立した動物のリンパ球は抗原特異的に種々のリンフォカインを産生する。	
MAF (macrophage activating factor)	
IFN- γ (interferon- γ)	
MIF (migration inhibitory factor)	
MCF (macrophage chemotactic factor)	
IL-2 (interleukin-2)	

うな特徴を有する。一般に ACR は DTH と平行して出現し、DTH 発現に関与するリンフォカインの多くはマクロファージの集合促進、活性化に関与することから、ACR と DTH とはT細胞レベルで同一の免疫現象であろうと考えられてきた。

リステリア生菌免疫マウスにおいて、生菌免疫後経時に DTH と ACR の発現をみたのが図 1 である。リステリア抗原で惹起される DTH は 6 日目より陽性となり、同時期に強い ACR が出現し持続している。これ

に対し、通常 ACR を誘導成立させ得ないと考えられているリステリア死菌では、免疫後21日目まで DTH も ACR も全く出現しない¹⁷⁾。さらに生菌免疫マウスの脾細胞を正常マウス足蹠に移入し、DTH と局所での ACR 発現の強さと移入細胞数の関係をみると、細胞数を減少させた場合、DTH と ACR は同時に発現されなくなった¹⁸⁾。この局所移入の系で、非附着性免疫脾細胞を種々の抗体と補体により選択すると、DTH も ACR もともに L3T4⁺, Lyt2⁻のT細胞によって担われていることが明らかである(表 2)。これらの成績はいずれも、DTH と ACR の強い関連性を示している。しかし、近年T細胞クローンをを用いた研究から、DTH を発現するクローンが必ずしも ACR を発現するとは限らぬことが示され、DTH と ACR のT細胞レベルでの同一性について疑問が投げかけられた¹⁹⁾。この点に関し、我々はT細胞クローンとは別の方法でアプローチを試みた。

死菌免疫マウスでは DTH, ACR とともに発現されないが、MIF は陽性化すること¹⁷⁾、また生菌免疫マウス脾細胞は死菌による刺激で容易に活性化されて分裂増殖し、種々のリンフォカインを産生することから、死菌にも充分な抗原性はあるものと考え、死菌免疫マウスと生菌免疫マウスのリンパ球機能を検討した。その結果、DTH, ACR 発現のみられない死菌/CFA 免疫マウスでも、リ

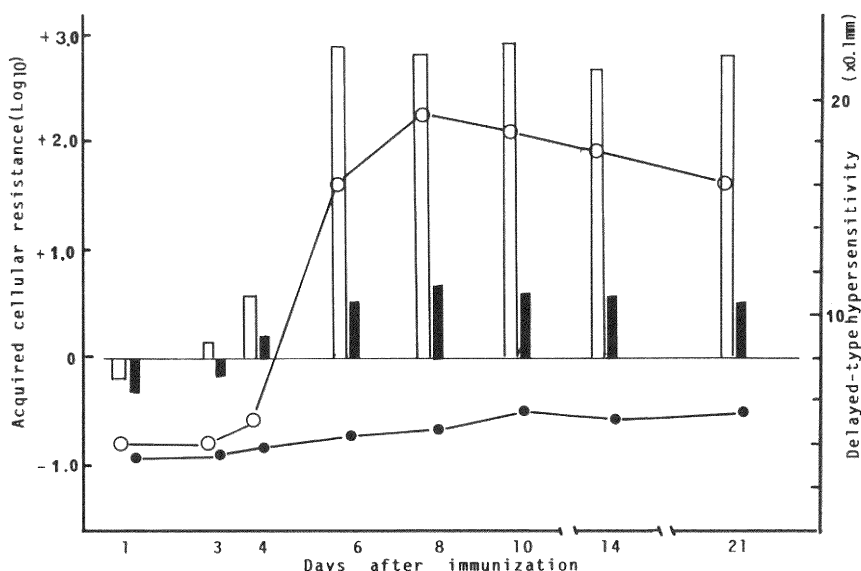


図 1 リステリア生菌、死菌免疫マウスにおける遅延型過敏反応と獲得抵抗性の出現とその程度の時間的経過

棒グラフは獲得抵抗性の強さ(白:生菌免疫,黒:死菌免疫)を示し、折れ線グラフはDTHの強さ(白丸:生菌免疫,黒丸:死菌免疫)を示す。

表2 DTHとACRの免疫リンパ球による受身移入と各種抗体処理の影響

免 疫	移入前の 細胞処理	D T H ($\times 0.1\text{mm}$)	攻撃感染後菌数 ($\text{Log}_{10}\text{cfu}$)	A C R
(-)	(-)	3.1 ± 0.6	5.83 ± 0.17	-
(+)	(-)	12.5 ± 2.3	4.22 ± 0.48	+ 1.61
(+)	C のみ	12.1 ± 1.2	4.34 ± 0.51	+ 1.49
(+)	抗Thy1 + C	5.9 ± 0.5	5.68 ± 0.25	+ 0.15
(+)	抗L3T4 + C	4.4 ± 0.8	5.48 ± 0.12	+ 0.35
(+)	抗Lyt2 + C	11.0 ± 1.5	4.39 ± 0.60	+ 1.44

非付着性免疫脾細胞を各抗体および補体で処理し、 1×10^7 を正常マウス足蹠に移入し、惹起抗原によるDTHを24時間後測定。

さらに 10^5 の生菌を攻撃感染させ24時間後の局所菌数を測定した。

表3 リステリア生菌と死菌によるDTHとACRのリンパ球レベルでの誘導の違い

移入細胞及び数	免 疫	D T H ($\times 0.1\text{mm}$)	局 所 菌 数 ($\text{Log}_{10}\text{CFU}$)	A C R
脾 細 胞 (2×10^7)	—	7.1 ± 0.6	6.07 ± 0.10	-
	生 菌	13.1 ± 1.2	5.16 ± 0.23	+0.91
	死菌/CFA	12.0 ± 1.1	6.03 ± 0.14	+0.04
	CFA のみ	6.6 ± 0.9	6.13 ± 0.07	-0.06
腹腔浸出性 リンパ球 (5×10^6)	—	4.3 ± 0.7	5.90 ± 0.37	-
	生 菌	10.2 ± 0.8	4.92 ± 0.25	+0.98
	死菌/CFA	9.3 ± 0.6	5.60 ± 0.22	+0.30
	CFA のみ	4.1 ± 0.8	5.94 ± 0.12	-0.04
リンパ節細胞 (5×10^6)	死菌/CFA	8.9 ± 1.0	5.89 ± 0.08	+0.01
	CFA のみ	4.4 ± 0.7	5.79 ± 0.12	+0.11

ンパ球レベルではDTHを正常マウスに局所移入し得る感作が成立していること、しかしこの細胞は強いDTH発現にも拘らずACRを全く発現しないことが明らかとなった(表3)。このDTHは抗原特異的であり、かつL3T4⁺、Lyt2⁻のT細胞によって担われていた。さらに興味あることには、生菌免疫マウス由来のT細胞による抗原特異的なMAF、MCF、IL-2産生に比べ、死菌/CFA免疫マウス由来のそれによるリンフォカイン産生は、MCFのみが同等であるものの、MAFやIL-2は極めて低値を示した²⁰⁾。この結果は、局所移入実験でみた場合、リンパ球レベルでのDTHとACRの解離を示し、さらにDTHのみしか発現できない感作リンパ球にはリンフォカイン産生能において、DTHとACRを同時発現し得るリンパ球と明らかな違いのあることを示した。

以上の成績には2通りの解釈が成り立つであろう。ひとつは、 T_{DTH} と T_{ACR} は本来別々に分化する異った系統のT細胞であるが、死菌免疫では T_{DTH} のみが感作され、 T_{ACR} の感作成熟に至らない。しかし生菌免疫では、両者が同一のKineticsで分化成熟し、表面形質も同一であるため区別されないという考えである。もうひとつは、 T_{DTH} と T_{ACR} は同一系統のT細胞の分化段階の違いで、死菌刺激では T_{DTH} 以降の分化成熟に必要なシグナルを形成し得ないという考えである。このような解釈が正しいか否か、また何れであるかは、今後*in vitro*で T_{DTH} の分化成熟を機能的に追跡できる系を用いた検討が必要であろう。なお、局所移入可能な T_{DTH} が誘導されているながら、死菌免疫動物そのものにはDTHが惹起されない理由は現在のところ不明であり、エフェクターT細胞の分裂能の低さに由来する有効な感作T細胞の絶対数

の不足，死菌免疫に伴うサプレッサーの誘導の可能性などが考えられる。

4. 感染防御発現に関与するリンフォカイン

Mackaness がリステリア感染マウス由来のマクロファージにおける抗リステリア活性の亢進と，それがリンパ球由来の因子によることを見出して以来¹⁾，マクロファージ機能を活性化させる因子 (MAF) の精製が試みられてきた。しかし，リステリアや結核菌で感作されたT細胞を抗原特異的に刺激した培養上清や，正常T細胞のコンカナバリンA刺激上清を出発材料として進められた生化学的手法による精製では，MAF の物質的単離には至らなかった。近年，MAF とは無関係に得られたリコンビナントインターフェロン- γ (rIFN- γ) が，いわゆる MAF 活性を有することが明らかとなり²¹⁾，また γ IFN- γ に対するモノクローナル抗体が，従来多くの研究者が用いてきた出発材料中の MAF 活性を中和することが知られて以来²²⁾，MAF は IFN- γ そのものであると考えられるようになった。

ところで，リステリアを初め多くの細胞内寄生性細菌感染に伴い，MAF/IFN- γ に限らず，MIF や MCF などマクロファージを作用の標的とする種々のリンフォカインがT細胞より放出される。これらは，マクロファージを局所に集合させ (MCF)，局所化させる (MIF) ことにより防御に与るとされてきたが実証はなかった。我々は，リステリア免疫早期にはマクロファージの機能的亢進がないにも拘らず，ある程度の再感染防御能亢進を示す時期があり，感染部位へのマクロファージの集合促進現象と平行することを見出していた²³⁾。そこで，リステリア感作脾細胞を抗原刺激した培養上清から MCF を分離して，その感染防御効果を検討した。

培養上清中には強い MAF 活性 (マクロファージに作用させた後の P815 腫瘍細胞に対する傷害活性) および MCF 活性 (Boyden chamber 法) がみられた。これを SephadexG-100 でゲル濾過すると，弱い MCF 活性と同時に強い MAF 活性を示す画分とは別に，MAF 活性の全く検出されない，分子量15,000をピークとする MCF 活性の画分が得られた。この画分の示す高い MCF 活性は，抗 rIFN- γ 抗体で全く吸収されない。得られた MCF 画分をマウス腹腔に投与すると，24時間目をピークとしてマクロファージの著明な集合がみられ，このときリステリアを腹腔内感染させると，低菌量では有意の脾内菌数減少がみられた。また，濃縮した MCF 画分を，液性成分の拡散の遅い足跡に移入し，24時間後

局所に攻撃感染を行うと，同部位で強い排除能の亢進を認めた²⁴⁾。これらの事実は，マクロファージ活性化のない状態でも，MCF による数的なマクロファージの集合促進が感染防御免疫発現の一部を構成することを示していよう。さらに，rIFN- γ 10^4 U の静脈内投与により全身のマクロファージ機能亢進がおこると考えられる状況でも，局所感染の前に MCF を投与してマクロファージを集合させた場合に初めて強い防御能が発現された (投稿中)。

このように，マクロファージに作用するT細胞性リンフォカインのあるものに免疫防御の全てが依存するのではなく，異ったリンフォカインの協同作用によって完全な防御発現に至ることが *in vivo* で示された。

5. 感染抵抗性T細胞の胸腺依存性

T細胞は胸腺で分化するため，いわゆる細胞性免疫は全て胸腺依存性であると考えられていた。事実，抗結核免疫やリステリアに対する免疫抵抗性はヌードマウスでは全く成立しない。ところが，ヌードマウスと同様にT細胞欠損マウスとして用いられていた新生時胸腺摘出 (NTx) マウスでは，抗結核免疫は成立しないにも拘らず，生菌免疫によるリステリアに対しての DTH, ACR は正常マウスと同等に成立する²⁵⁾。リンパ球レベルでは，このNTx マウスで誘導されるのは，L3T4⁺, Lyt2⁻の成熟T細胞であったが²⁶⁾，特異抗原刺激に対しては IL-2 産生が著明に低下していた²⁷⁾，つまり，細胞内寄生性細菌の種類に応じて，感染抵抗性T細胞の胸腺依存性に差があることになり，今後，異なった菌種に対応する特異的T細胞の分化，成熟に及ぼす胸腺の役割という観点からアプローチを試みる必要があろう。

6. おわりに

免疫学の進展とともに，生体现象の極めて多くの局面に免疫現象の関与することが明らかとなり，また遺伝子工学的手法によって，免疫学の本命題であった抗原特異性と反応の多様性の機構も分子レベルで解明されてきた。しかし，本来免疫現象が最も役立つと考えられる感染防御機構については，今なお未解決の問題が多く残されている。ここでは，筆者らの研究成績を中心に，細胞内寄生性細菌に対する細胞性免疫機構について総説的に述べた。今後感染に対して，細菌の病原性因子への細菌学的アプローチと同時に，宿主の示す多様な防御因子についての免疫学的，生物学的アプローチがますます要求されるものと思われる。

参 考 文 献

- 1) Mackaness, G.B.: Cellular resistance to infection, J. Exp. Med., 116: 381~425, 1962.
- 2) Mackaness, G.B.: The immunological basis of acquired cellular resistance, J. Exp. Med., 120: 105~120, 1964.
- 3) Miki, K. and Mackaness, G.B.: The passive transfer of acquired resistance to *Listeria monocytogenes*, J. Exp. Med., 120: 93~103.
- 4) Mackaness, G.B.: The influence of immunologically committed lymphoid cells on macrophage activity *in vivo*, J. Exp. Med., 129: 973~992, 1969.
- 5) Takeya, K., Shimotori, S., Taniguchi, T. and Nomoto, K.: Cellular mechanisms in the protection against infection by *Listeria monocytogenes* in mice, J. Gen. Microbiol., 100: 373~379, 1977.
- 6) Mitsuyama, M., Takeya, K., Nomoto, K. and Shimotori, S.: Three phases of phagocyte contribution to resistance against *Listeria monocytogenes*, J. Gen. Microbiol., 106: 165~171, 1978.
- 7) Akeda, H., Mitsuyama, M., Tatsukawa, K., Nomoto, K. and Takeya, K.: The synergistic contribution of macrophages and antibody to protection against *Salmonella typhimurium* during the early phase of infection, J. Gen. Microbiol., 123: 209~214, 1981.
- 8) Tatsukawa, K., Mitsuyama, M., Takeya, K. and Nomoto, K.: Differing contribution of polymorphonuclear cells and macrophages to protection of mice against *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*, J. Gen. Microbiol., 115: 161~166, 1979.
- 9) Fukutome, T., Mitsuyama, M., Takeya, K. and Nomoto, K.: Importance of antiserum and phagocytic cells in the protection of mice against infection by *Klebsiella pneumoniae*, J. Gen. Microbiol., 119: 225~229, 1980.
- 10) Tsuru, S., Nomoto, K., Mitsuyama, M., Zinnaka, Y. and Takeya K.: Importance of polymorphonuclear leukocytes in protection of mice against *Escherichia coli*, J. Gen. Microbiol., 122: 335~338, 1981.
- 11) Matsumoto, T., Mitsuyama, M., Miake, S., Takeya, K. and Nomoto, K.: Augmented resistance to *Listeria monocytogenes* in mice at an early stage of aging, J. Clin. Lab. Immunol., 2: 55~58, 1979.
- 12) Matsumoto, T., Miake, S., Mitsuyama, M., Takeya, K. and Nomoto, K.: Enhanced resistance to *Listeria monocytogenes* due to nonspecifically activated macrophages in aged mice. J. Clin. Lab. Immunol., 8: 51~55, 1982.
- 13) Sano, M., Mitsuyama, M., Watanabe, Y. and Nomoto, K.: Impairment of T cell-mediated immunity against *Listeria monocytogenes* in pregnant mice, Microbiol. Immunol., 30: 165~176, 1986.
- 14) Watanabe, Y., Mitsuyama, M., Sano, M., Nakano, H. and Nomoto, K.: Enhanced resistance against *Listeria monocytogenes* at an early phase of primary infection in pregnant mice, Infect. Immun., 52: 730~735, 1986.
- 15) Ohara, R., Mitsuyama, M., Miyata, M. and Nomoto, K.: Ontogeny of macrophage-mediated protection against *Listeria monocytogenes*, Infect. Immun., 48: 763~768, 1985.
- 16) Mitsuyama, M., Ohara, R., Amako, K., Nomoto, K., Yokokura, T. and Nomoto, K.: Ontogeny of macrophage function to release superoxide anion in conventional and germfree mice, Infect. Immun., 52: 236~239, 1986.
- 17) Mitsuyama, M., Nomoto, K. and Takeya, K.: Enhanced elimination of *Listeria monocytogenes* at the site of delayed footpad reaction, Infect. Immun., 30: 1~4, 1980.
- 18) Mitsuyama, M., Nomoto, K. and Takeya, K.: Direct correlation between delayed footpad reaction and resistance to local bacterial infection, Infect. Immun., 36: 72~79, 1982.
- 19) Kaufmann, S.H.E.: Monoclonal T cells and

- T cell hybridomas with antibacterial activity, pp. 234~267. In *Monoclonal Antibodies against Bacteria*, ed. by A. J. L. Macario and E. C. deMacario, Academic Press (New York), 1985.
 - 20) Koga, T., Mitsuyama, M., Handa, T., Yayama, T., Muramori, K. and Nomoto, K.: Induction by killed *Listeria monocytogenes* of effector T cells mediating delayed-type hypersensitivity but not protection in mice, *Immunology*, **62**: 241~248, 1987.
 - 21) Schreiber, R.D.: Identification of gamma-interferon as a murine macrophage-activating factor for tumor cytotoxicity, *Contemp. Top. Immunobiol.*, **13**: 171~198, 1984.
 - 22) Schreiber, R. D., Hicks, L.J., Celada, A., Buchmeir, N. A. and Gray, P.W.: Monoclonal antibodies to murine γ -interferon which differentially modulate macrophage activation and antiviral activity, *J. Immunol.*, **134**: 1609~1618, 1985.
 - 23) Miyata, M., Mitsuyama, M., Ogata, N. and Nomoto, K.: Two steps in the generation of acquired cellular resistance against *Listeria monocytogenes*: Accumulation and activation of macrophages, *Immunology*, **47**: 247~253, 1982.
 - 24) Handa, T., Mitsuyama, M., Watanabe, Y., Koga, T. and Nomoto, K.: A significant role of the macrophage accumulation induced by MCF in the protection of mice against *Listeria monocytogenes in vivo*, *Cell. Immunol.*, **106**: 330~342, 1987.
 - 25) Nomoto, K., Shimamoto, Y., Taniguchi, K., Kubo, C., Kawauchi, H., Mitsuyama, M. and Takeya, K.: Development of immunity against *Listeria monocytogenes* in athymic nude *versus* neonatally thymectomized mice, *Cell. Immunol.*, **75**: 134~143, 1983.
 - 26) Mitsuyama, M., Watanabe, Y., Sano, M., Amako, K. and Nomoto, K.: Generation of *Listeria monocytogenes*-specific T cells mediating delayed footpad reaction and protection in neonatally thymectomized mice but not in nude mice. *Med. Microbiol. Immunol.* accepted, 1988.
 - 27) Watanabe, Y., Mitsuyama, M., Koga, T., Yoshikai, Y. and Nomoto, K.: Protective immunity to *Listeria monocytogenes* in neonatally thymectomized (NTx) mice: Involvement of T cells distinct from those in sham-thymectomized mice. *Immunology*, **63**: in press, 1988.
-