

T-1982 の抗原性に関する免疫学的研究

竹内良夫・木村義民・西村葉子・八木和郎

吉河達祐・石井洋二

日本医科大学微生物学免疫学教室

T-1982 の免疫原性ないし抗原性についてウサギ，モルモットおよびマウスを用いて検討し次の結論をえた。

- 1) T-1982 単独を adjuvant 加感作したものでは，免疫原性は認められなかった。
- 2) T-1982 を protein と coupling させたものを CFA と emulsion にしてウサギを過免疫すると T-1982 に対する特異抗体が産生されることが間接血球凝集，同阻止反応，モルモットを用いての 3 hr. PCA 反応によって認められた。
- 3) T-1982 と CET, CEZ, ABPC, PCG の間の交叉抗原性はほとんどみられないか，きわめて軽微であった。
- 4) T-1982 のマウスに対する IgE 抗体の産生能について検討したが，薬剤単独感作では抗体産生はまったく見出されなかった。
- 5) モルモットに対するアナフィラキシー・ショックの発来性はまったく認められなかった。
- 6) T-1982 のクームス陽性化作用は，CET, PCG に比べ弱かった。

T-1982 は新しく開発された Fig. 1 に示す構造式を有するセファマイシン系抗生剤で，グラム陽性ならびに陰性菌に対し広域の抗菌作用を示す¹⁾。私どもは T-1982 の抗原性ないし，感作原性について Cephalothin (CET), Cefazolin (CEZ), Ampicillin (ABPC) および Benzylpenicillin (PCG) を対照として比較検討し，T-1982 の免疫学的特異性について基礎的研究を行なうことを目的とした。

I. 実験材料ならびに方法

1) 供試薬剤

T-1982 (富山化学工業 Lot. W 1030) ならびに供試薬剤として次の 4 種の既知ペニシリンおよびセファロsporin 誘導体を用いた。

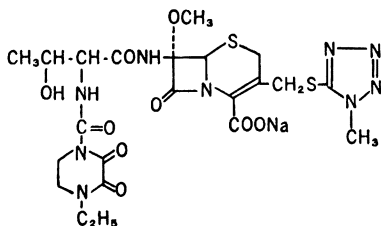
Cephalothin (CET: 塩野義製薬 Lot. KF 7051)

Cefazolin (CEZ: 藤沢薬品工業 Lot. ZA-9019)

Ampicillin (ABPC: 富山化学工業 Lot. 72420)

Benzylpenicillin (PCG: 明治製薬 Lot. GLD 94)

Fig. 1 Chemical structure of T-1982



2) 供試動物

(1) ウサギ：雌性の日本在来白色ウサギ，体重 2.5 kg 前後のものを使用した。

(2) モルモット：雌性の Hartley 系モルモット体重 250 g 前後のものを使用した。

(3) マウス：雌性 BALB/c 系 8 週齢のものを使用した。

(4) ラット：雄性の Wistar 系，体重 180 g 前後のものを使用した。

3) 免疫用抗原および反応用抗原の作製

供試薬剤 (T-1982, CET, CEZ, ABPC, PCG) の各 400 mg と human serum albumin (HSA, 日本生化学工業) および *Ascaris suum* extract (ASC) (G. H. STREJAN ら²⁾ の方法にて作製) の 100 mg と pH 7.2 の 0.01 M phosphate buffer (PBS) 20 ml に溶解し，37°C，24 時間 pH を 7.2 に維持し，incubate した。遊離の薬剤を透析により除去した後の凍結乾燥物を HSA coupling 抗原および ASC coupling 抗原とした。反応用抗原には bovine γ -globulin (BGG, Miles lab. inc.) を同様の方法で incubate し，BGG coupling 抗原を作製した。

4) 免疫方法

(1) ウサギの免疫方法：各薬剤と HSA の coupling 抗原 (20 mg/0.5 ml) と FREUND の complete adjuvant (CFA) 0.5 ml を等量混合して emulsion とし 1 ml をウサギの foot pads に注射した。週 1 回の割合で 4 回感

Table 1 Indirect hemagglutination test with rabbit antisera

Rabbit antisera	T-1982 · BGG	CET · BGG	CEZ · BGG	ABPC · BGG	PCG · BGG	BGG
Anti T-1982 · HSA	256	4	4	0	0	0
Anti CET · HSA	8	256	32	0	0	0
Anti CEZ · HSA	8	128	256	0	0	0
Anti ABPC · HSA	0	0	8	128	128	0
Anti PCG · HSA	0	0	8	128	512	0
Anti T-1982	0	0	0	0	0	0
Anti CET	0	0	0	0	0	0
Anti CEZ	0	0	0	0	0	0
Anti ABPC	0	0	0	0	0	0
Anti PCG	0	0	0	0	0	0

作し、免疫開始後40~43日に全採血し、抗血清をえた。以上の対照として薬剤単独 (20 mg/0.5 ml) と CFA を等量混合して emulsion を作製し、同様の免疫方法でウサギに感作した。

(2) マウスの免疫方法: 各薬剤と ASC の coupling 抗原 10, 50, 100 μ g のおのおのと silica gel (5 mg/ml Tris buffered saline) の混合液 1 ml をマウスの腹腔内に注射した⁸⁾。1回 (primary) 感作は2回行ない1回感作後2週目に同じ抗原濃度で2回目の感作をし、その1週間後に採血した。以上の対照として各薬剤単独 (10, 50, 100 μ g) と silica gel (5 mg/ml) の混合液をマウスに同様に感作した。

5) 抗体価の測定

(1) 間接血球凝集反応: タンニン酸処理綿羊血球⁹⁾ を BGG と coupling させた反応用抗原 (T-1982 · BGG, CET · BGG, CEZ · BGG, ABPC · BGG, PCG · BGG) の 2 mg/ml 液で常法に従って感作し、マイクロ・タイター法をもって感作血球凝集反応を行なった。感作血球凝集価は、血球凝集を示すウサギ抗血清の最大稀釈倍数をもって表示した。

(2) 間接血球凝集阻防止反応: ウサギ抗 T-1982 · HSA 血清と T-1982 · BGG の抗原抗体系を用いた。

間接血球凝集反応に対し、種々の濃度の薬剤 (T-1982, CET, CEZ, ABPC, PCG) を添加し、間接血球凝集反応阻防止をマイクロ・タイター法により検討した。すなわち、ウサギ抗 T-1982 · HSA 血清の2倍段階稀釈系列の各 0.025 ml と、0.1 mM から 200 mM の各薬剤 (T-1982, CET, CEZ, ABPC, PCG) の 0.025 ml をマイクロプレートの well に入れて、1時間保ってから、各 BGG coupling 抗原で感作された 1.5% 血球浮遊液を添加して感作血球凝集反応の阻防止を観察し 100% 凝集阻防止をする

薬剤濃度を求めた。以上の対照として、ウサギ抗 CET (または homologous な CEZ, ABPC および PCG) HSA 血清とそれに対応する反応用抗原を用い、同阻防止反応を行なった。

(3) モルモットにおける 3 hr. passive cutaneous anaphylaxis (PCA) 反応: Ovary の方法¹⁰⁾ に準じて各ウサギ抗血清の2倍段階稀釈液の 0.05 ml をモルモットの剪毛皮内に注射し、3 hr. 後に各反応用抗原 (1 mg/ml) と 0.5% evans blue 液を混合した溶液の 0.5 ml を静注し、惹起注射30分後における青色斑の径 6 mm 以上をもって陽性とし、陽性反応を示す抗血清の最大稀釈倍数で PCA 価を表示した。抗体価は1実験3匹のモルモットを用いた平均値で示した。

(4) ラットにおける 48 hr. PCA 反応: マウスにおける IgE 抗体産生の有無を免疫マウス血清を用いてラットにおける 48 hr. PCA によって検討した。すなわち免疫マウスから得た抗血清を2倍段階稀釈し、その各 0.05 ml を正常ラットの剪毛背部皮内に注射した。48 hr. 後に各反応用抗原 (1 mg/ml) と 0.5% evans blue の混合液の 1 ml を静注し30分後において発現する 6 mm 以上を陽性とし、陽性反応を呈する投与抗血清の最大稀釈倍数をもって PCA 価とした。1群3匹のラットを用いた。

6) モルモットのアナフィラキシー・ショック

(1) 能動性アナフィラキシー・ショック: 一群5匹のモルモットに T-1982 (80 mg/ml) と CFA の等量混合の emulsion 0.5 ml を皮下に、または T-1982 · HSA (20 mg/ml) と CFA の等量混合の emulsion 0.5 ml を foot pads に1週間間隔で2回皮内注射した。3週間後に T-1982 · BGG (20 mg/ml) の 0.5 ml を静注してアナフィラキシー・ショックの発来性を検討した。結果はショック症状の有無と生死をもって判定した。

Table 2 Indirect hemagglutination inhibition test

Rabbit antisera	Challenging antigen	Inhibitor (mM)				
		T-1982	CET	CEZ	ABPC	PCG
Anti T-1982 · HSA	T-1982 · BGG	0.2	25.0	50.0	>200.0	>200.0
Anti CET · HSA	CET · BGG	12.5	3.1	25.0	100.0	>200.0
Anti CEZ · HSA	CEZ · BGG	6.2	12.5	0.1	200.0	>200.0
Anti ABPC · HSA	ABPC · BGG	200.0	>200.0	>200.0	0.2	6.2
Anti PCG · HSA	PCG · BGG	200.0	>200.0	>200.0	6.2	0.1

Table 3 3hr. PCA in guinea pigs

Rabbit antisera	Challenging antigen in PCA					
	T-1982 · BGG	CET · BGG	CEZ · BGG	ABPC · BGG	PCG · BGG	BGG
Anti T-1982 · HSA	1,000	20	10	10	10	0
Anti CET · HSA	20	1,000	100	20	20	0
Anti CEZ · HSA	20	500	500	20	20	0
Anti ABPC · HSA	5	10	5	2,000	100	0
Anti PCG · HSA	5	10	5	200	4,000	0
Anti T-1982	0	0	0	0	0	0
Anti CET	0	0	0	0	0	0
Anti CEZ	0	0	0	0	0	0
Anti ABPC	0	0	0	0	0	0
Anti PCG	0	0	0	0	0	0

(2) 被動性アナフィラキシー・ショック：一群5匹のモルモットにウサギ抗 T-1982 · HSA 血清 0.5 ml を静注し、20時間後に T-1982 · BGG (20 mg/ml) を 1 ml 静注してアナフィラキシー・ショックの発症性を検討した。

7) 直接クームス試験：MOLTHAN の方法⁹⁾により行なった。

ヒトO型血液 1 ml を抗生物質の2倍段階希釈液 1 ml に加え、37°Cで3時間反応させ遠心操作で血球を洗浄し、2%血球浮遊液を調製した。小試験管にこの3滴を取り Ortho社製のクームス試薬2滴を加え良く振盪した後、直ちに1,000 rpm で1分間遠心し、沈渣を乱しながら凝集の有無を調べ2回の実験結果により判定した。

II. 実験成績

1) T-1982ならびに CET, CEZ, ABPC および PCG 免疫ウサギの抗体価についての検討

(1) 抗血清の間接血球凝集価

T-1982 · HSA, CET · HSA, CEZ · HSA, ABPC · HSA および PCG · HSA の各 CFA emulsion で免疫されたウサギの抗血清と各薬剤 · BGG 感作血球を用いて交叉間接血球凝集反応を行なった (Table 1)。

各免疫抗原に対応する homologous 抗原による凝集価

は抗 T-1982 血清256倍、抗 CET 血清256倍、抗 CEZ 血清256倍、抗 ABPC 血清128倍、抗 PCG 血清512倍であった。

抗 T-1982 血清に対する各薬剤 · BGG の交叉性は CET, CEZ は各4倍でわずかであり、ABPC, PCG は交叉性が認められなかった。また各抗血清に対する T-1982 · BGG の反応性は、セファロsporin系薬剤(CET, CEZ)に対して各8倍であったが、ペニシリン系薬剤(ABPC, PCG)に対しては反応しなかった。

(2) 上記抗血清についての間接血球凝集阻止反応

ウサギで作製した抗血清を使用した上記感作血球凝集反応の結果を同阻止反応で再確認した (Table 2)。

抗 T-1982 血清は T-1982 の 0.2 mM で凝集阻止が観察されたが、CET, CEZ では 25 mM, 50 mM であり100倍以上の薬剤が凝集阻止に必要であった。また ABPC, PCG では 200 mM で凝集阻止されなかった。他の薬剤の抗血清に対する T-1982 の交叉性は、抗 CET, CEZ 血清に対して 6.2~12.5 mM で交叉性がわずかに確認されたがペニシリン系では認められなかった。

(3) 抗血清のモルモットを用いての 3hr. PCA 反応
ウサギ抗血清をモルモット 3hr. PCA 反応で検討した

Table 4 Test for IgE production in mice (48hr. PCA in rats) on 7th day after secondary injection

Mouse antisera	Challenging antigen in PCA					
	T-1982 · BGG	CET · BGG	CEZ · BGG	ABPC · BGG	PCG · BGG	BGG
Anti T-1982 · Asc	100	5	5	0	0	0
Anti CET · Asc	10	200	50	0	0	0
Anti CEZ · Asc	0	100	200	0	0	0
Anti ABPC · Asc	0	0	0	300	100	0
Anti PCG · Asc	0	5	5	50	1,000	0
Anti T-1982	0	0	0	0	0	0
Anti CET	0	0	0	0	0	0
Anti CEZ	0	0	0	0	0	0
Anti ABPC	0	0	0	0	0	0
Anti PCG	0	0	0	0	0	0

Secondary : booster injection at 2 weeks after primary injection.

Table 5 Studies on the anaphylactic shock in guinea pigs sensitized with T-1982

Group	Sensitized with	Challenging Ag	Number tested	Number of death
Active sensitization	T-1982+CFA	T-1982 · BGG	5	0
	T-1982 · HSA+CFA	T-1982 · BGG	5	0
Passive sensitization	Rabbit anti T-1982 · HSA serum	T-1982 · BGG	5	0

Table 6 Coombs test by the method of MOLTAN

Drug	Concentration of drug(mg/ml)						
	40	20	10	5	2.5	1.2	0
T-1982	±	-	-	-	-	-	-
CET	++	++	++	+	±	-	-
CEZ	±	-	-	-	-	-	-
ABPC	±	-	-	-	-	-	-
PCG	+	±	-	-	-	-	-

(Table 3). 反応抗原には薬剤・BGG coupling 2 mg/ml (Saline) を使用した。免疫抗原に対応する homologous 抗原の challenge で抗 T-1982 血清は 1,000 倍、また抗 CET, CEZ, ABPC および PCG 血清ではおのおの 1,000, 500, 2,000, 4,000 倍であった。抗 T-1982 血清に対する各薬剤の交叉反応性は 10~20 倍で、T-1982 · BGG の 1,000 倍に比べその交叉性は低かった。

HSA coupling 免疫群の対照とした薬剤単独+CFA 免疫群から得た血清は、以上の免疫反応で抗体産生はまったく認められなかった。

2) T-1982 ならびに CET, CEZ, ABPC および PCG のマウスを用いての IgE 抗体産生能の検討

T-1982 ならびに他のペニシリンおよびセファロスポリン誘導体 (CET, CEZ, ABPC, PCG) を用いてマウスを免疫し、IgE 抗体が産生されるか否かについて検討した。Table 4 は免疫抗原の secondary injection 後 1 週目の抗血清についての薬剤の交叉性を示した。T-1982, CET, CEZ, ABPC および PCG に対するマウス抗血清は、対応する各薬剤と BGG の coupling 抗原とおのおの 100, 200, 200, 300, 1,000 倍の PCA titer を示した。また抗 T-1982 血清はセファロスポリン系薬剤とは 5 倍、ペニシリン系薬剤とは交叉性を示さなかった。

以上の対照とした薬剤 (10, 50, 100 μg) + silica gel 免疫群では、全例に抗体産生は認められなかった。

3) T-1982 感作モルモットにおけるアナフィラキシー・ショックの発来について

(1) 能動性アナフィラキシー・ショック

T-1982 単独および T-1982 · HSA 結合物の CFA emulsion をもって感作したモルモット各群 5 匹に惹起抗原 (T-1982 · BGG) を注射したが、いずれもアナフィラキシー様ショック症状および死亡したものはみられなかった (Table 5)。

(2) 被動性アナフィラキシー・ショック

ウサギ抗 T-1982 血清を正常モルモットに 1 ml 静注

し、20時間後に惹起抗原 (T-1982・BGG) を静注したのがなんらショック様症状および死亡したものはなかった (Table 5)。

4) 試験管内直接クームス試験

T-1982の直接クームス試験を MOLTHAN の方法に準じて CET, CEZ, ABPC および PCG と比較検討した。Table 6 に示すように、T-1982によるクームステスト陽性化を示した。濃度は 40 mg/ml 以上であり他の薬剤に比べ弱い傾向を示した (Table 6)。

III. 考 察

新たに開発されたセファマイシン抗生剤である T-1982の抗原性ならびに免疫学的特異性について基礎的検討を行なった。

最初に T-1982 薬剤単独と silica gel の混合液または CFA emulsion としたものをマウス、モルモットおよびウサギに免疫した結果、全例に抗体産生は認められなかった。そこで、本剤の免疫学的特異性を測定する目的で HSA または *Ascaris suum* extract を結合させた carrier protein coupling 薬剤を作製した。これらを免疫抗原として上記の動物に感作してえられた各種薬剤に対する抗血清について検討した。

その結果 T-1982 は抗セファロスポリン抗体 (CET, CEZ) とわずかに反応したが抗ペニシリン抗体 (ABPC, PCG) とは反応せず、市販の β -lactam 抗生剤に対する抗体への反応性は少ないと考えられた。同様に抗 T-1982 血清に対する各種薬剤の反応性も低かった。

従来より Benzyl penicilloyl (BPO) 抗体においては、BPO のアシル側鎖である phenyl acetic acid や phenyl glycine とだけ結合する抗体や、母核の 6-amino penicilloate とだけ反応するもの、あるいは BPO protein 全体と反応するもの、さらに BPO の結合したアミノ酸残基周辺部と反応するもの集合体⁷⁻⁹⁾であることが知られている。これは免疫経過によっても抗原構造に対応する特異抗体の比率が異なる¹⁰⁾が、抗セファロスポリン抗体でも同様の多様性が考えられる。

以上の構造特異抗体が T-1982 で生じるならば lactam 環と生体蛋白結合部に由来する抗体が産生される可能性があり、その結果 ABPC, PCG との交叉性が強まるであろう。しかしながら T-1982 はそれらの薬剤と交叉性を示さなかったことから、T-1982 抗体は薬剤の側鎖に比較的強い affinity をもつ可能性が推測された。

堀内¹¹⁾らはアシル側鎖特異抗体について報告し、さらに NISHIDA ら (1972)¹²⁾は Benzyl penicillin のベンゼン環がその際の重要な抗原決定基となり、側鎖が長くなればなる程 penicilloyl 結合の数が減少し、免疫原性が

弱くなる傾向がみられると報告している。このことから、ある条件下で抗体が産生されれば major antigenic determinant⁹⁾よりも側鎖に強い affinity をもつ抗体が出現する可能性が考えられる。事実、今回の実験に使用した T-1982 は 4-ethyl-2, 3-dioxo-1-piperazine carboxamido を有する長い側鎖をもち、同じ moiety をもつ Piperacillin に対する抗体の免疫学的特異性¹³⁾からも T-1982 特有の抗体を産生したのであろうと考えられた。

CET, CEZ と PCG との相異はアシル側鎖がベンゼン環の代りにチオフェン、テトラゾール環に、母核がチアゾリン核の代りにジヒドロサイアジン核に変わったものである。これらは構造的な相異により PCG との免疫学的交叉性はないと予想された。しかしリジンの ϵ -NH₂ 基とアミド結合すること、側鎖のチオフェンがベンゼンと免疫学的にまったく同一態度をとる^{14,15)}ことが証明された後は、CET と PCG の交叉性は高いと考えられている。今回の結果ではペニシリン類 (ABPC, PCG) とセファロスポリン類 (CET, CEZ) の間の交叉性は 5~20 PCA titer (Table 1~3) 程度であったが、CET, CEZ 間および ABPC と PCG 間の交叉性は強かった。

抗 ABPC 抗体はその構造由来の立体障害により¹⁶⁾ PCG との交叉性は少ないとする報告とは異なった結果がえられた。さらに IgE type 血清の交叉反応について抗原構造との相関は不明であるが、T-1982 抗体はわずかに CET, CEZ と反応するのみであり、IgG, IgM type 抗体よりもさらに強い側鎖特異抗体であることが示唆された。

以上の各薬剤間の免疫学的な交叉性はハブテン阻止反応で再検討され、T-1982 の特異性が示唆された。

さらに、T-1982 のモルモットに対するアナフィラキシー・ショックの発来性について検討したが、T-1982 を用いての能動性感作またはウサギ抗 T-1982・HSA 血清を用いての被動性アナフィラキシーにおいて、なんらショック症状を呈したものは見出せなかった。

一方、ペニシリンによる免疫学的副作用としてクームス陽性化を伴う溶血性貧血が報告^{7,9)}されている。すなわち試験管内直接クームス試験が薬剤の免疫学的副作用の検討上意味あるものと考え MOLTHAN の方法により検討したが、本剤のクームス陽性化作用は CET, PCG などに比べ弱かった。

稿を終えるにあたり、富山化学工業(株)総合研究所々員 柴田哲夫氏のご協力に深謝いたします。

文 献

- 1) 第29回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シ

- ンボジウム I, T-1982 抄録集, 1981
- 2) STREJAN, G. H.; K. ROBHERU, R. WHITE & D. SURLAN: Reaginic antibody production to *Ascaris suum* allergen.
 - 3) MANCINO, D. & N. BEVILACQUA: Further studies on the adjuvant effects of Silicae on IgE antibody production in mice. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 59: 427~431, 1979
 - 4) 高橋昌己: 感作血球凝集反応の簡易化とその応用に関する基礎的研究。アレルギー 13 (7): 516~523, 1964
 - 5) OVARY, Z.: Immediate reaction in the skin of experimental animals provoked by antibody-antigen interaction. *Progr. Allergy* 5: 459~508, 1964
 - 6) MOLTHAN, L.; M. REIDENBERG & M. F. EICHMAN: Positive direct Coombs test due to cephalothin. *New Engl. J. Med.* 227: 123~125, 1967
 - 7) ATSUMI, T.; K. NISHIDA, K. KINOSHITA, K. SHIBATA & Y. HORIUCHI: The heterogeneity of combining sites of anti-benzyl penicilloyl antibodies obtained from individual rabbit. *J. Immunol.* 99: 1286~1293, 1967
 - 8) ACKROYD, J. F.: The diagnosis of disorders due to drug hypersensitivity caused by an immune mechanism. *Immunological Methods*, Ed. J. F. ACKROYD, p. 452~513, Blackwell scientific publications, Oxford, 1964
 - 9) LEVINE, B. B.: Studies on the mechanism of formation of the penicillin antigen. The N (D- α -benzylpenicilloyl) group antigenic determinant responsible for hypersensitivity to penicillin G. *J. Exp. Med.* 114: 875~903, 1968
 - 10) 堀内淑彦, 柴田皓示, 渥美 剛: 薬剤過敏症の皮膚反応: ペニシリンハプテン。最新医学 21: 2128~2132, 1966
 - 11) 堀内淑彦, 渥美 剛: ペニシリン抗体。代謝 5: 382~396, 1968
 - 12) NISHIDA, K.; Y. KINOSHITA, T. ATSUMI, K. SHIBATA & Y. HORIUCHI: The analysis of combining sites of rabbit anti-benzyl penicilloyl antibodies. *Immunochemistry* 9: 1195, 1972
 - 13) 竹内良夫, 西村葉子, 木村義民: 新合成ペニシリン T-1220 に関する免疫学的研究。Chemotherapy 26: 609~613, 1978
 - 14) 柴田皓示, 渥美 剛, 西田 聖, 木下与四男, 堀内淑彦: Cephalothin の抗原性特に benzyl penicillin との交叉性について。アレルギー 16: 108, 1967
 - 15) SHIBATA, K.; T. ATSUMI, Y. HORIUCHI & K. MASHIMO: Immunological cross reactivities of cephalothin and its related compounds with benzyl penicillin. *Nature* 212: 419~423, 1966
 - 16) 堀内淑彦: 薬剤アレルギー入門, p. 112~113, 金原出版株式会社, 1977

IMMUNOLOGICAL STUDIES ON ANTIGENICITY OF T-1982

YOSHIO TAKEUCHI, YOSHITAMI KIMURA, YOKO NISHIMURA,
KAZURO YAGI, TATSUSUKE YOSHIKAWA and YOJI ISHII
Department of Microbiology and Immunology, Nippon Medical School

The antigenicity or immunological characteristics of T-1982 was studied employing rabbits, guinea pigs and mice.

The results obtained were as follows:

- 1) Antibody production against T-1982 was not observed in rabbits immunized with single administration of T-1982 or with the emulsion of T-1982 and complete Freund's adjuvant (CFA).
- 2) Hapten-specific antibody production against T-1982 was demonstrated by indirect hemagglutination test, hemagglutination inhibition test and 3 hr PCA of guinea pigs, employing rabbit anti T-1982 serum hyperimmunized with the emulsion of T-1982 coupled to human serum albumin and CFA.
- 3) IgE antibody production in mice immunized with the mixture of T-1982 and silica gel was not observed at all.
- 4) Anaphylactic syndrome was not observed in guinea pigs actively sensitized with T-1982 or passively sensitized with rabbit anti T-1982 serum.
- 5) The ability of T-1982 to give a positive reaction in Coombs' test was rather weaker than that of CET or PCG.