

AN AGAROSE PLATE METHOD FOR THE STUDY OF HUMAN T AND B  
LYMPHOCYTE MIGRATION

ヒトのTおよびBリンパ球遊走検査法と  
してのアガロース平板技法

JOHN A. PINKSTON, M.D.

STUART C. FINCH, M.D.

SHOZO IIDA 飯田昭三

ROBERT A. CAPLAN, M.D.



RADIATION EFFECTS RESEARCH FOUNDATION

財団法人 放射線影響研究所

A cooperative Japan - United States Research Organization

日米共同研究機関

A paper based on this report was published in the following journal:

本報告に基づく論文は下記の雑誌に発表した。

Japanese Journal of Experimental Medicine, Vol. 48, 3, p. 279-282, 1978

#### RERF TECHNICAL REPORT SERIES

#### 放影研業績報告書集

The RERF Technical Reports provide the official bilingual statements required to meet the needs of Japanese and American staff members, consultants, and advisory groups. The Technical Report Series is in no way intended to supplant regular journal publication.

放影研業績報告書は、日米専門職員、顧問、諮問機関の要求に応えるための日英両語による公式報告記録である。業績報告書は決して通例の誌上発表論文に代わるものではない。

---

*The Radiation Effects Research Foundation (formerly ABCC) was established in April 1975 as a private nonprofit Japanese Foundation, supported equally by the Government of Japan through the Ministry of Health and Welfare, and the Government of the United States through the National Academy of Sciences under contract with the Department of Energy.*

放射線影響研究所(元ABCC)は、昭和50年4月1日に公益法人として発足した。その経費は日米両政府の平等分担とし、日本は厚生省の補助金、米国はエネルギー省との契約に基づく米国学士院の補助金とをもって充てる。

## AN AGAROSE PLATE METHOD FOR THE STUDY OF HUMAN T AND B LYMPHOCYTE MIGRATION

ヒトの T および B リンパ球遊走検査法と  
してのアガロース平板技法

JOHN A. PINKSTON, M.D.<sup>1</sup>; STUART C. FINCH, M.D.<sup>2</sup>; SHOZO IIDA (飯田昭三)<sup>3</sup>;  
ROBERT A. CAPLAN, M.D.<sup>3</sup>

*Departments of Medicine<sup>1</sup> and Clinical Laboratories<sup>2</sup>, and Chief of Research<sup>3</sup>*

臨床部<sup>1</sup>, 臨床検査部<sup>3</sup> および研究担当理事<sup>2</sup>

### SUMMARY

An agarose plate method is described for measuring the random migration of human T and B lymphocytes. Migration studies on separate human T and B lymphocyte populations demonstrated striking differences in migration patterns and cell morphologic characteristics. The technique is suitable for studying the effects of chemokinetic and chemotactic factors on the migration of lymphocyte subpopulations.

### INTRODUCTION

This report describes a relatively simple technique for the differential study of human peripheral blood T and B lymphocyte migration as a monolayer beneath agarose media. The method consists of a modification of the agarose plate technique for the study of granulocyte migration which previously has been reported to provide poor support for lymphocyte migration.<sup>1</sup> Alteration of serum lymphokinetic factors in the media appears to have been responsible for enhancement of mature lymphocyte migration.

### METHOD

About 10.0 ml of heparinized venous blood (20 I.U. heparin/ml) was obtained from six healthy adult donors. It was mixed with an equal volume of calcium and magnesium free balanced salt solution (BSS) by means of a sterile, wide-tipped Pasteur pipette. Five ml of

### 要 約

ヒトの T および B リンパ球の不規則な遊走を測定するためのアガロース平板技法について記述した。ヒトの T および B リンパ球の遊走を個別に検査した結果、遊走像と細胞の形態的特徴において著しい差異のあることが証明された。本技法は、化学運動性および走化性因子がリンパ球の subpopulation に及ぼす影響の研究に適したものである。

### 緒 言

本報告では、ヒト末梢血液の T および B リンパ球の遊走をアガロース培地下に単一層として鑑別検査するための比較的簡単な技法について述べる。方法は、リンパ球遊走調査にはあまり適当でないと以前報告された<sup>1</sup> 顆粒球遊走検査用のアガロース平板法の変法である。培地中血清のリンパ球運動性因子の変化が成熟リンパ球の遊走を増加させたものと考えられる。

### 方 法

健康成人 6 名から採取した静脈血にヘパリン (20 I.U. ヘパリン/ml) を混和した約 10.0 ml の試料を用意した。先の太い滅菌パストール・ピペットを使用し、この試料にカルシウムおよびマグネシウムを含まない同量の平衡化食塩水 (BSS) を加えて混合した。この

the diluted blood were carefully layered over 3.0 ml of Ficoll-Conray solution in conical centrifuge tubes. The granulocytes and lymphocytes then were separated according to the Boyum method<sup>2</sup> using sterile technique.

The lymphocytes were pooled and washed twice, each time by adding 10.0 ml of BSS followed by centrifugation at 450 G for 10 minutes at 4°C. The supernatant was discarded and the cells were resuspended in 1.0 ml of BSS. T and B cell separation was accomplished by adding 1.0 ml of a 1% suspension of sheep red blood cells (SRBC - Japanese Biological Materials Center, Tokyo, Japan) in fetal calf serum (FCS - Grand Island Biological Co., Grand Island, N.Y.) to the lymphocyte suspension which then was divided into 10 aliquots of 0.2 ml each in small test tubes. After 15 minutes of standing at room temperature the tubes were spun at 20 G for 5 minutes, then placed in an ice water bath for 1-2 hours. The total contents of all tubes were carefully drawn into a fine-tipped Pasteur pipette, layered over 3.0 ml of Ficoll-Conray solution and centrifuged for 20 minutes at 400 G at 4°C. The B cell ring was pipetted off, washed twice with 10.0 ml of BSS followed by centrifugation at 400 G for 10 minutes at 4°C. The T cell-SRBC pellet was osmotically lysed and the T cells were washed in the same manner as the B cells described above.

The degree of monocyte contamination was evaluated by the use of nonspecific esterase staining.<sup>3</sup> Monocyte contamination of some B cell preparations was reduced by means of glass adsorption. The cells were suspended in 3.0 ml of RPMI (RPMI 1640 - Nissui Seiyaku Co. Ltd., Tokyo, Japan) in a glass culture flask which then was incubated in a CO<sub>2</sub> incubator at 37°C for 30 minutes. The nonadherent cells were pipetted off and washed twice as described above. All cell preparations were finally suspended in RPMI at a concentration of  $1 \times 10^6$  cells per 10  $\mu$ l. Viability of the cells following washing was greater than 97% by trypan blue exclusion.

The recipe for the agarose (Agarose A-45, Nakarai Chemicals, Ltd., Kyoto, Japan) mixture which was found to be most satisfactory and which was used for these experiments is as follows:

1. Agarose solution - 5.0 ml of sterile distilled water were added to 100.0 mg of agarose in a 250.0 ml Erlenmeyer flask.

希釈血液 5 ml を、円錐形の遠心分離管中の Ficoll-Conray 混合液 3 ml の上に注意深く重層した。その後、滅菌技法を使用した Boyum 法<sup>2</sup> に従って、顆粒球とリンパ球を分離した。

リンパ球をプールして、BSS 10.0 ml を加え 2 回洗浄した後、4°C、450 G で 10 分間遠心分離した。上清液を除去して、BSS 1.0 ml の中で細胞を再懸濁した。ウシ胎児血清 (FCS) (Grand Island Biological 社製, Grand Island, N.Y.) 中のヒツジ赤血球 (SRBC) (日本生物材料センター, 東京) 1% 懸濁液 1.0 ml をリンパ球の懸濁液に加え、それを 10 本の小試験管に 0.2 ml ずつ分注し、T および B 細胞の分離を行った。試験管を室温で 15 分間静置した後、20 G で 5 分間遠心分離を行い氷水の水槽に 1-2 時間浸した。先の細いパスツール・ピペットに各試験管の内容物を全部注意深く吸い取り、Ficoll-Conray 混合液 3.0 ml の上に重層し、4°C、400 G で 20 分間遠心分離した。B 細胞環をピペットで除去し、10.0 ml の BSS で 2 回洗浄した後、4°C、400 G で 10 分間遠心分離した。T 細胞は、T 細胞-SRBC 塊の浸透溶解した後、上記の B 細胞と同じ方法で洗浄した。

単球混入の程度は、非特異性エステラーゼ染色法<sup>3</sup> で調べた。単球の一部 B 細胞標本への混入はガラス吸着法によって削減された。ガラスの培養フラスコに RPMI (RPMI 1640-日水製薬会社, 東京) 3.0 ml を入れ、細胞を懸濁し、37°C で 30 分間 CO<sub>2</sub> 恒温器中で培養した。付着しなかった細胞はピペットで除去し、上記の方法で、2 回洗浄した。最後に、全細胞標本を 10  $\mu$ l あたり細胞数  $1 \times 10^6$  の濃度の RPMI 中に懸濁した。洗浄後の細胞の生育力は、トリパン・ブルー排除検査で 97% を超えることが分った。

最良のアガロース (アガロース A-45, 半井化学薬品会社, 京都) 混合物で、本研究で使用したものは次のように処方した:

1. アガロース液 250.0 ml Erlenmeyer フラスコ中のアガロース 100.0 mg に 5.0 ml の滅菌蒸留水を加えた。

## 2. Nutrient solution: 養液

Sterile distilled water 滅菌蒸留水	2.2 ml
RPMI (X10 concentrated) RPMI (10倍の濃度)	0.8 ml
Pooled Human Serum (PHS - Pentex, Miles Laboratories Inc., Elkart, Indiana)	
プールしたヒト血清	2.0 ml
Antibiotic solution 抗生物質液	0.025 ml
Glutamine solution グルタミン液	0.1 ml
Amphotericin B solution (Fungizone, E.R. Squibb-Sons, Inc., Princeton, N.J.)	
アムホテリシンB液	0.005 ml

The antibiotic solution consisted of a mixture of 100,000 units of potassium penicillin in 9.0 ml of sterile BSS and 0.2 g of streptomycin in 1.0 ml of sterile BSS. The Amphotericin B solution consisted of 50 mg of Amphotericin B dissolved in 25.0 ml of sterile BSS. The glutamine solution was prepared by dissolving 0.3 g of glutamine in 10.0 ml of sterile BSS.

3. The agarose solution was boiled and added to the nutrient solution. Half (5.0 ml) of the mixture was poured into each of two small (60 X 15 mm) plastic disposable Petri dishes (Falcon, Oxnard, Ca.). They were hardened by refrigeration at 4°C.

Three wells, each 3 mm in diameter and 4 mm apart in a straight line, were cut in the center of each plate. The core of agarose in the center of each well was carefully removed by means of gentle suction through a Pasteur pipette. A 10.0  $\mu$ l aliquot of lymphocytes suspended in RPMI ( $10^6$  cells) was carefully placed in each of the lateral wells by means of a capillary pipette.

The center well was reserved for substances that might influence migration. In order to make histologic observations five to seven separate plates were prepared for each individual in the study. These were incubated at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub> incubator for periods up to 7 days. Permanent preparations were made at intervals of 1 to 2 days for each individual by covering the agar of one of the plates with Carnoy's solution for 30 minutes following which the agar was removed, the dish was washed with tap water and the adherent cells were stained with Giemsa or Wright-Giemsa. Migration distances on fixed preparations were measured by means of a table top 35 mm slide projector with a ground glass screen which provided 16-fold magnification. The two migration distances on each plate were averaged as the end-point for each study.

抗生物質液の成分は、ペニシリンカリウム 100,000 単位添加滅菌 BSS 9.0 ml とストレプトマイシン 0.2 g 添加滅菌 BSS 1.0 ml の混合液であった。アムホテリシン B 液は、アムホテリシン B 50 mg 溶解滅菌 BSS 25.0 ml 液であった。グルタミン液は滅菌 BSS 10.0 ml にグルタミン 0.3 g を溶解し作製した。

3. アガロース液を煮沸し、養液に加えた。この混合液の半分 (5.0 ml) を 2 個の使い捨てのプラスチック製小ペトリ皿 (60×15mm) (Falcon, Oxnard, Ca.) に分注し、それらを 4°C で冷却し固めた。

各アガロース平板の中央部に直径 3 mm の試料孔を一直線に 4 mm 間隔で 3 個くった。パストール・ピペットで、各試料孔中心部のアガロース栓状塊を静かに吸引し、丹念に除去した。毛细管ピペットを使用し、RPMI に懸濁した 10.0  $\mu$ l のリンパ球 ( $10^6$  細胞) を両側の試料孔に注意しながら注入した。

中央の試料孔には、細胞遊走に影響を及ぼす可能性のある物質を入れた。組織学的観察を行うために、対象者一人につき 5 ないし、7 枚の平板を用意した。これらを 5% CO<sub>2</sub> 恒温器に入れ、37°C で、最高 7 日間まで培養した。永久標本は、各対象者ごとに 1 日ないし 2 日の間隔で 1 個の平板のアガールに Carnoy 液を注ぎ、30 分後にアガールを除き、ペトリ皿を水道水で洗浄し、付着した細胞を Giemsa または Wright-Giemsa で染色した。固定標本の遊走距離は、すりガラス製スクリーンを有する卓上用 35 mm スライドプロジェクターで、16 倍の倍率にして測定し、最後に、各平板の二つの遊走距離を平均した。

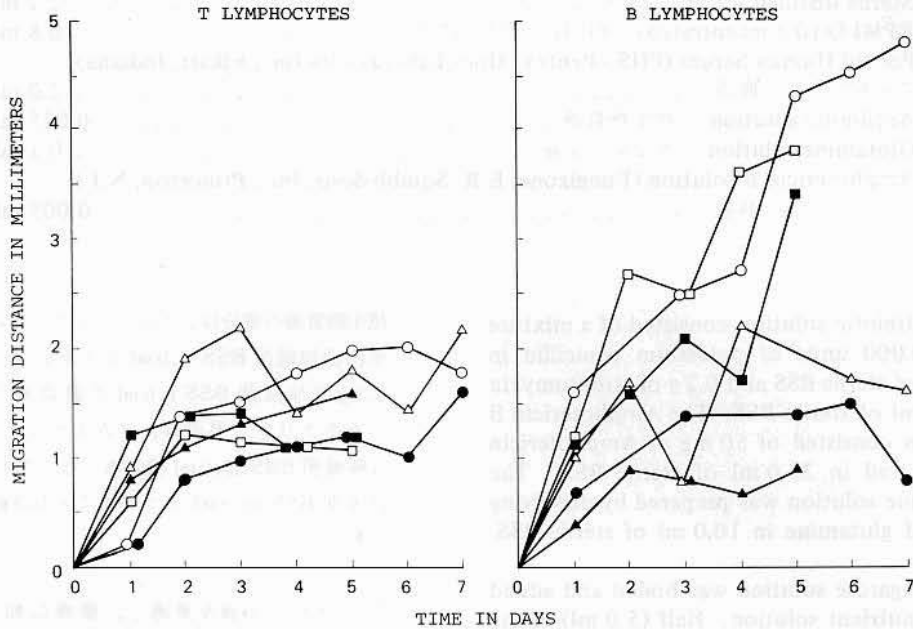


Figure 1 Separate agar plates were used to determine each point on these graphs. This accounts for some of the fluctuations in migration distances over time. Different symbols have been used to show the results for each individual in the study.

これらのグラフの各点を決定するために、それぞれ別のアガール平板を用いた。このため経時的な遊走距離に認められる若干の変動が認められる。各検査対象者ごとに違う記号を使用してそれぞれの結果を示す。

## RESULTS

T and B cell random migration studies at intervals of 1 to 2 days for periods of 5 to 7 days were completed for all six adults (Figure 1). T cell migration generally was quite rapid during the first 48 hours and then plateaued or continued slowly during the next 3 to 5 days. The average migration distance was  $1.3 \text{ mm} \pm 0.34$  at 48 hours and  $1.5 \text{ mm} \pm 0.32$  at 5 days. B cell migration in three individuals plateaued at 48 to 72 hours at an average of  $1.3 \text{ mm} \pm 0.33$ , whereas the cells of the other three continued to outmigrate and at 5 days averaged  $3.8 \text{ mm} \pm 0.37$ . Monocyte adsorbed B cell migration distances for the three persons studied were about 70% those of the monocyte unadsorbed B cells.

The histologic appearances of the T and B cell preparations were distinctly different in all stages of incubation (Figure 2). Generally, the migration

## 結果

1日ないし2日おきに5ないし7日にわたり成人6名全員にTおよびB細胞の不規則遊走検査を実施した(図1)。一般に、T細胞の遊走は最初の48時間はかなり速く、次の3-5日間は停滞するか、速度が衰えた。48時間の平均遊走距離は $1.3 \text{ mm} \pm 0.34$ で、5日間の平均は $1.5 \text{ mm} \pm 0.32$ であった。B細胞遊走は、3名では48ないし72時間で停滞し、平均遊走距離は $1.3 \text{ mm} \pm 0.33$ であったが、残り3名においては細胞の遊走はさらに延び、5日間の平均遊走距離は $3.8 \text{ mm} \pm 0.37$ であった。単球吸着を実施した3名のB細胞遊走距離は、単球非吸着B細胞遊走距離の約70%であった。

TおよびB細胞標本の組織学的外観は、培養の各段階で著しく異なっていた(図2)。一般に、T細胞の

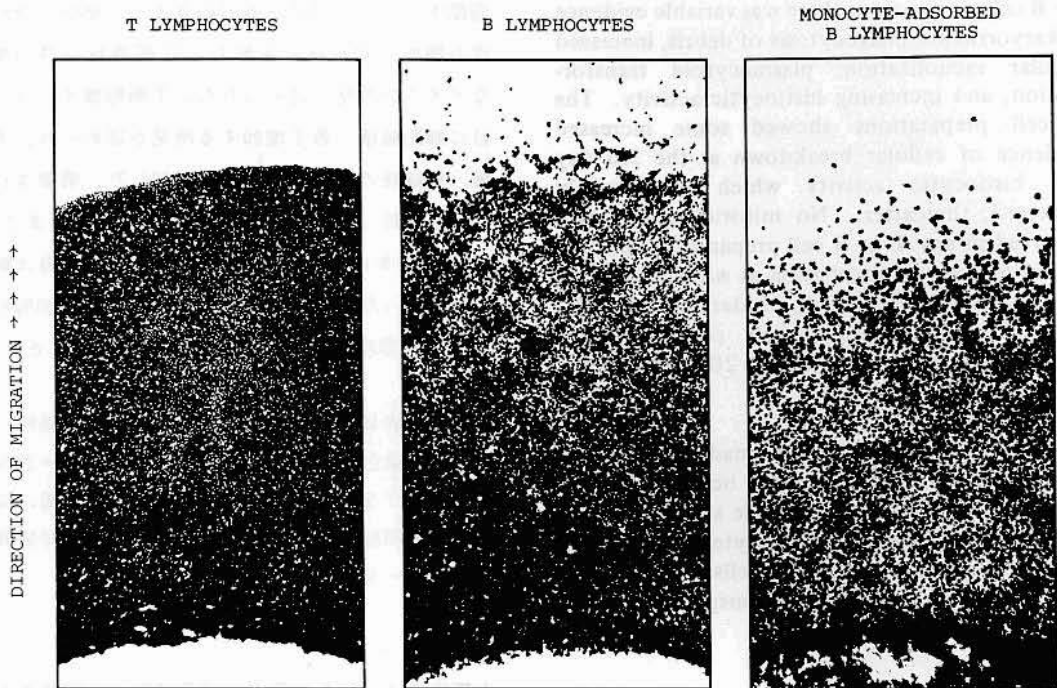


Figure 2 Photomicrographs of representative portions of the migration patterns under agarose gel are shown for T, B, and monocyte-adsorbed B lymphocyte preparations following incubation for 72 hours. A portion of the well from which migration originated is located at the bottom of each photo (35 $\times$ ).

72時間の培養後、T細胞、B細胞および単球吸着Bリンパ球の標本のアガロース・ゲル下における遊走像の代表的部分の顕微鏡写真を示す。遊走の起点となった試料孔の部分は各写真(35倍)の下部に見られる。

edges of the T cell monolayers were much sharper and were more regular than were those of the B cells. T cells tended to be more closely packed together than were the B cells. Differences in the morphology of migrating T and B cells were noted with higher magnification. The T cells usually had an oval or ellipsoid, darkly staining nucleus with some chromatin clumping but without nucleoli or mitoses. The cytoplasm was spongy and often had a tailed appearance with random directional orientation. The B cells were larger with granular cytoplasm and long ribbon-like nuclei which frequently were eccentrically located. The appearance of the migrating B cells resembled band polymorphonuclear leukocytes.

Both types of preparations were well preserved without mitosis or evidence of cellular breakdown during the first 48 to 72 hours. Thereafter in

一層遊走辺縁は、B細胞のそれよりもはるかに鮮鋭で、しかも規則的であった。T細胞はB細胞よりも密集する傾向があった。遊走するTおよびB細胞の形態上の相違は倍率が高くなるにつれて明白となった：通常、T細胞には、染色質が若干凝集するが、小核や核分裂のない卵円形または楕円形の濃染する核があった。細胞質は海綿状で、しばしば不規則指向性を示すとともに尾部を有する外観を呈していた。B細胞は、T細胞よりも大きく、顆粒状の細胞質と、しばしば辺縁性に位置する長いリボン状の核を有していた。遊走するB細胞の外観は桿状多形核白血球に似ていた。

両種の細胞は、最初の48-72時間の間よく保持され、核分裂や細胞破壊の所見はなかった。その後、B細

the B cell preparations there was variable evidence of karyorrhexis, phagocytosis of debris, increased cellular vacuolization, plasmacytoid transformation, and increasing histiocytic activity. The T cell preparations showed some increased evidence of cellular breakdown at the 3rd day and histiocytic activity which progressively increased, thereafter. No mitotic activity was observed in any T or B cell preparation until the 4th or 5th day of incubation at which time only a few mitoses were noted. Moderate to marked bacterial contamination was observed after 3 days of incubation in about 20%-30% of the preparations.

Monocyte contamination of unadsorbed B cell preparations was estimated to be 15%-20% on the basis of nonspecific esterase staining. Glass adsorption reduced the monocytes to less than 5%. Fewer than 1% of the cells in the T cell preparations were positive for nonspecific esterase.

## DISCUSSION

A method has been described for the evaluation of human T and B cell random migration as a monolayer under agarose. Rapid out-migration occurs for both types of cells during the first 48 to 72 hours without addition of a mitogen or definite evidence of cell transformation. It seems very likely, however, that lymphocyte membrane perturbation or binding by various serum factors have some influence on the extent of random migration. The later stages of incubation frequently show marked cellular reactive and degenerative change and some evidence of mitotic activity. Most previous studies have indicated that appreciable lymphocyte migration occurs only after mitogenic transformation has occurred.<sup>4,5</sup> In our studies no mitogen is added, but the cellular reactive changes may represent evidence of some transformation. The B cell studies are less clear, but it has been suggested that little B cell migration occurs unless there is membrane perturbation such as occurs with the binding of anti Ig.<sup>6</sup>

Another difference between the agarose method and most other previous methods for the evaluation of lymphocyte migration is the length of the observation period. The agarose plate migration observations are made after many hours or days of incubation in contrast to most other methods which follow the cells for only a few hours or less. One study has indicated that

細胞標本には、核崩壊、残屑の食作用、細胞の空胞形成の増加、形質球の変形および組織球活性の増進など多くの所見が認められた。T細胞標本では3日目に細胞破壊の若干増加する所見が認められ、その後、組織球の活性が漸進的に増加した。培養4日ないし5日目にわずかな核分裂が認められるまでは、T細胞標本にもB細胞標本にも核分裂活動は観察されなかった。培養3日以後に、標本の約20%から30%に中等度から高度の細菌の混入が観察された。

単球非吸着B細胞標本の単球混入は、非特異性エステラーゼ染色を基にして推定した結果、15-20%であった。ガラス吸着によって単球は5%未満に減少した。T細胞標本のうち1%未満の細胞は非特異性エステラーゼに対して陽性であった。

## 考 察

本報告では、ヒトのTおよびB細胞の不規則遊走をアガロース培地下の単一層として評価するための方法を述べた。両種の細胞とも、最初の48ないし72時間は、細胞分裂刺激剤を加えていないし、明らかな細胞転換の所見が認められないにもかかわらず、迅速で長距離の遊走を示した。しかしながら、種々の血清因子によるリンパ球膜の摂動や結合が不規則遊走の範囲に何らかの影響を与えた可能性が強い。培養の後期には、しばしば、細胞の著明な反応性や退行性の変化と、若干の核分裂活動の徴候が認められた。以前の研究のほとんどでは、リンパ球の遊走は核分裂刺激剤使用による転換があった後で初めて認められると指摘されている。<sup>4,5</sup> 我々の研究では細胞分裂刺激剤は加えていないが、細胞の反応性の変化はある種の転換が起った徴候を示すのかもしれない。B細胞の研究では、それほど明白な所見は認められないが、抗Igの結合によって起こるような膜摂動がなければ、B細胞の遊走はほとんどないことが示唆されている。<sup>6</sup>

以前のリンパ球遊走検定法のほとんどとアガロース技法との間におけるもう一つの差異は観察期間の長さにある。アガロース平板技法による遊走の観察が何時間、何日間もの培養後行われるのに対し、その他の技法のほとんどでは、2、3時間以下の観察しか行われていない。ある研究では、刺激剤を加えた



stimulated lymphocyte movement is markedly reduced after a period of less than 1 hour of observation.<sup>7</sup> Our studies suggest that both B and T cells are capable of movement for much longer periods of time under the proper circumstances.

The random migration patterns for human T and B lymphocytes under agarose are quite different. The migration distances are similar for 24 to 48 hours, but thereafter the B cells from some people migrate more rapidly and in a much more disorganized manner than the T cells. The morphologic appearance of migrating human T and B lymphocytes also is quite different. The T lymphocytes remain small to medium-sized and retain many of the characteristics of mature lymphocytes. The B cells, on the other hand, are larger and become quite reactive in appearance after the first few days incubation.

The quantitative response of B cells following removal of the monocytes was moderately reduced, but it probably is not necessary to remove the monocytes for studies of B cell migration. Total B cell yields are appreciably reduced following glass adsorption. More importantly, there is little evidence that the contaminating monocytes appreciably influence the general characteristics of the pattern of B cell migration.

The technique described in this report is well suited to the study of the effects of various chemokinetic and chemotactic factors in the random and directional migrations of lymphocyte subpopulations. Various substances which influence migration can be incorporated into the agar and chemotactic gradients can be established through diffusion into the agarose of substances which have been placed in the center well.

リンパ球の遊走は観察後 1 時間未満で著しく減少することが指摘された。<sup>7</sup> 我々の研究は、適当な条件下においては B および T 両細胞ともはるかに長い時間遊走可能であることを示唆した。

アガロース下のヒトの T および B リンパ球の不規則遊走像は全く異なる。24 ないし 48 時間では遊走距離は類似しているが、その後は、ある者の B 細胞は T 細胞よりも速く、かつはるかに無秩序に遊走する。また、遊走するヒトの T および B リンパ球の形態も全く異なる。T リンパ球は小から中位の大きさで、成熟リンパ球の特徴を多く保持している。他方、B 細胞は T 細胞よりも大きく、培養 2、3 日後の外観では相当反応性を有するようになる。

単球除去後の B 細胞の量的反応はかなり減少したが、B 細胞遊走検査の場合、恐らく、単球を除去する必要はない。B 細胞の総収量はガラス吸着後かなり減少する。さらに重要なのは、混入単球が B 細胞遊走像の総体的な特徴にかなりの影響を与えるという徴候がほとんど認められないことである。

本報告で述べた技法は、種々の化学運動性および走化性因子がリンパ球 subpopulation の不規則および指向性遊走に及ぼす影響の研究に適したものである。遊走に影響を与える種々の物質をアガールの中に入れることもできるし、また、中央試料孔に入れた物質のアガロース内への拡散によって、走化性傾向を確立することもできる。

## REFERENCES

## 参考文献

1. NELSON RD, QUIE PG, SIMMONS RL: Chemotaxis under agarose: a new and simple method for measuring chemotaxis and spontaneous migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *J Immunol* 115:1650-6, 1975
2. BOYUM A: Separation of blood leukocytes, granulocytes and lymphocytes. *Tissue Antigens* 4:269-74, 1974
3. YAM LT, LI CY, CROSBY WH: Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. *Am J Clin Path* 55:283-90, 1971
4. BIBERFIELD P: Uropod formation in phytohaemagglutinin (PHA) stimulated lymphocytes. *Exp Cell Res* 66:433-45, 1971
5. RYDGREN L, NORBERG B, HÅKANSSON CH, MECKLENBURG CV, SÖDERSTRÖM N: Lymphocyte locomotion. I. The initiation, velocity, pattern, and path of locomotion in vitro. *Lymphology* 9:89-96, 1976
6. SCHREINER GF, UNANUE ER: Anti-Ig triggered movements of lymphocytes—specificity and lack of evidence for directional migration. *J Immunol* 114:809-14, 1975
7. UNANUE ER, AULT KA, KARNOVSKY MJ: Ligand-induced movement of lymphocyte surface macromolecules. IV. Stimulation of cell motility by anti-Ig and lack of relationship to capping. *J Exp Med* 139:295-312, 1974