

アトピー性皮膚炎患者末梢血単核球の House Dust Mite 抗原刺激による Interleukin-10と Interferon- γ 産生について

福島県立医科大学皮膚科

元木良和 吉川康之 小嶋幸夫
松井 隆 金子史男

成人型のアトピー性皮膚炎(AD)患者と健常人の末梢血単核球(PBMC)に, house dust mite(HDM)抗原および concanavalin (Con) A を添加・培養し, 上清中の interleukin (IL)-10および interferon (IFN)- γ の産生を ELISA 法で測定した. AD-PBMC は HDM 刺激により経時的に IL-10を産生し(12 h: 918.4 ± 206.5 , 24h: 1252.5 ± 145.8 , 72h: 1332.7 ± 123.9 pg/ml), 各時点で, 健常人(12h: 231.1 ± 139.0 , 24h: 585.7 ± 196.2 , 72h: 813.5 ± 181.8 pg/ml) に比して有意に高値だった. AD-PBMC は, Con A 刺激にも同様に, 健常人よりも有意に高い IL-10産生を示したが, HDM 刺激によるものに比べ低値であった. 一方, AD-PBMC の IFN- γ 産生は, HDM および Con A 刺激ともに, 健常人に比して有意に低値だった. AD-PBMC では IL-10産生と IFN- γ は負の相関関係を示唆していた. AD 患者では, 主要な環境抗原である HDM 抗原に対して, helper T type 2 (Th2) 型サイトカインである IL-10が優位に産生されたことから, AD の病変形成に IL-10をはじめとする Th2型サイトカインが関与している可能性が示唆された.

Key words: atopic dermatitis — house dust mite antigen — interleukin-10 — interferon- γ

はじめに

アトピー性皮膚炎(atopic dermatitis; AD)はアトピー素因を有する患者に生ずる慢性再発性皮膚炎である¹⁾. その臨床像は加齢とともに変化する. 乳児期には湿潤性病変を呈し, 幼児期および成人期には乾燥傾向が強く, 著明な苔癬化局面を形成する. また, 最近では成人型 AD 患者には治療薬の影響も受けて顔面の浮腫性潮紅発作, 頸部の多形皮膚萎縮症様皮膚変化や体幹部の浮腫性紅斑などを伴う例がみられ, その複雑な臨床像から成人型 AD を1つの新しい皮膚病態と

してとらえる考え方も提唱されている²⁾. AD 患者では, その80~90%に house dust mite (HDM) 抗原や卵白抗原などの環境抗原および食物抗原に対する特異的な IgE 抗体が検出される³⁾. AD の発症機序については未だ明らかとは言えないが, 皮膚炎の発症には IgE 抗体および T 細胞の関与が示唆され, 免疫応答の異常, 生理・生化学的異常, 遺伝学的因子の関与など様々な観点から研究が行われている^{4)~9)}.

最近, AD 病変部の T 細胞がクローン化され, その浸潤 T 細胞は interleukin (IL)-4, IL-5, IL-10などを産生する helper T type 2 (Th2) 細胞が, 遅延型反応の主体となる helper T type 1 (Th1) 細胞に比べ優位であることが示された⁶⁾⁷⁾. われわれは, 既に AD 患者の末梢血単核球(peripheral blood mononuclear cells; PBMC)において, HDM 抗原刺激による IL-6の産生能が健常人に比して亢進していること, 苔癬化病変部表皮には健常皮膚に比して IL-6が検出されること, この IL-6が表皮角化細胞増殖に関与している可能性を報告してきた¹⁰⁾¹¹⁾. 一方, AD 患者の病変部では IL-10が検出され, AD 患者単球の IL-10産生能が健常人に比して亢進していることも報告されている¹²⁾. われわれも既に HDM 抗原により AD 患者 PBMC が

Received: April 18, 1996

Accepted: March 7, 1997

Abbreviations: AD atopic dermatitis; Con A concanavalin A; *Dp* *Dermatophagoides pteronyssinus*; *Df* *Dermatophagoides farinae*; ELISA enzyme-linked immunosorbent assay; FBS fetal bovine serum; HDM house dust mite; IFN interferon; IL interleukin; mRNA messenger RNA; PBMC peripheral blood mononuclear cells; RT-PCR reverse transcriptase polymerase chain reaction; Th1, Th2 helper T type 1, 2; TNF tumor necrosis factor

IL-10を産生することをみており¹³⁾, ADの皮疹発症の病態にIL-10も深く関与することを推察してきた。IL-10はT細胞(Th2型), 単球・マクロファージ, 表皮角化細胞などから産生されるサイトカインで, その作用としてB細胞の分化・増殖促進, 肥満細胞の増殖促進, 活性化T細胞の抑制作用, すなわちTh1型細胞からのinterferon-gamma (IFN- γ)の産生抑制などが知られている^{14)–16)}。このようなことから, 今回は成人型AD患者を対象とし, そのPBMCをHDM抗原およびT細胞のmitogenであるconcanavalin A (Con A)で刺激し, 両者による反応の相違, IL-10とIFN- γ の産生およびそれらの相互作用について検討した。

材料と方法

1. 対象

福島県立医科大学付属病院皮膚科外来を受診した。後述分類による中等症以上の臨床症状を有する成人型AD患者24名(平均年齢23歳, 男性12名, 女性12名), 対照として健常人15名(平均年齢23歳, 男性7名, 女性8名)を検討対象とした。全AD患者は, 直前の2週間は医師による継続的治療を受けておらず, 痒みを訴え, 病変部には掻破痕, 乾燥皮膚, 屈曲部位の苔癬化など, 苔癬化病変を主病変とする定型的な成人型ADの所見を有していた。ステロイドの全身投与が行われていたものはなかった。

ADの重症度は, 採血時における皮膚症状から判定し, 大略に分類可能な阿南ら¹⁷⁾の分類法を一部改変し, 簡便に3grade (G)とした。G1: いわゆるアトピー皮膚(atopic skin)に加えて軽度の苔癬化局面を有するもの。G2: 四肢や体幹に限局性の苔癬化局面を有するが広範囲でないもの。G3: 典型的なADで全身皮膚の乾燥肥厚がみられ, かつ苔癬化の程度が著明で広範囲なものである。対象AD患者の内訳はG1: 0名, G2: 4名, G3: 20名であった。血清IgE値の測定は大塚アッセイ(東京)のCAP法を用いた。AD患者の血中総IgE (RIST) 値は 3210.2 ± 1155.7 IU/ml ($n=19$), Dp特異IgE (RAST) 値は, 1未満: 3名, 1以上2未満: 2名, 2以上3未満: 0名, 3以上4未満: 2名, 4以上5未満: 1名, 5以上6未満: 5名, 6以上: 5名であった。また, Df特異IgE-RAST値は, 1未満: 3名, 1以上2未満: 1名, 2以上3未満: 0名, 3以上4未満: 1名, 4以上5未満: 4名, 5以

上6未満: 3名, 6以上: 5名であった。AD患者の臨床検査値, 特にIgEとHDM抗原に対する反応の関係をまとめた。

2. PBMCのHDM抗原刺激

対象者からヘパリン加静脈採血を行い, Lymphoprep (NYCOMED, Oslo, Norway)を用いた比重遠心法により, 主としてリンパ球含有のPBMCを分離した。PBMCは10%非働化fetal bovine serum (FBS) (UBC, Australia)加RPMI1640 (GIBCO, USA)を用いて 1×10^6 cells/mlに調整し, 前報¹⁰⁾に述べた方法に準じ, HDM抗原添加後, 37°C, 5%CO₂インキュベータにて培養した。HDM(鳥居薬品から供与)は, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *Dermatophagoides farinae* (Df) house dust 混合, lot number: K1 65, デストロフェノール法にて精製したもので, 1mg中にDerp 1, Derf 1抗原各19.4, 13.1ng含有(ELISA法にて測定)する抗原を用いた。各刺激条件により適時培養上清を採取し, IL-10およびIFN- γ 測定に供した。AD患者PBMCの刺激条件は, HDM抗原は濃度を0.1, 1, 10 μ g/mlとし, 刺激時間を12, 24, 72時間とした。陽性コントロールとしてのT細胞のmitogenであるCon A (SIGMA, St. Louis, USA)は, データーは示していないが0.1, 1.0, 10, 100 μ g/mlの至適濃度試験の結果から濃度を10 μ g/mlとして, 刺激時間を24, 72時間とした。健常人PBMCは, HDM抗原の濃度を1 μ g/mlとした。刺激時間はいずれも24, 72時間とした。一部のAD患者PBMCは, HDM抗原1 μ g/ml刺激後, 細胞を採取し messenger RNA (mRNA) の検出に供した。

3. IL-10・IFN- γ 測定法

PBMC培養上清中のIL-10およびIFN- γ の濃度は各々サンドウィッチ法によるenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) キット: IL-10 (ENDOGEN, USA), IFN- γ (大塚製薬, 東京)を用いて測定した。

4. Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) 法

HDM添加または無添加にて12, 24, 72時間(IL-10)または24, 48時間(IFN- γ)培養したPBMCを 2×10^5 個ずつ採取し, oligo dT cellulose (Invitrogen, CA, USA)を用いてpoly A⁺ RNAを単離した。cDNAの合成はreverse transcriptase (Invitrogen, CA, USA)の存在下に hexanucleotide random primer を用いて42°C, 60分間行った。得られたcDNAはIL-10, IFN- γ ,

および β -actin (いずれも Stratagene, CA, USA) の primer を用いて, Taq polymerase (宝酒造, 滋賀) 存在下に, denature 94°C 1分30秒, annealing 60°C 45秒, extension 72°C 45秒, 35 cycles の条件で PCR を行った. PCR product は 2% agarose ゲル電気泳動後, ethidium bromide (和光純薬, 大阪) にて染色した.

5. 統計学的解析

検査値は mean $\pm$ standard error of the mean (SEM) で表示し, 有意差の検定は Mann-Whitney's U Test を用い, $p < 0.05$ を有意と判定した. 相関係数 (r) はピアソンの相関係数を用い, 相関の有意性の検定では $p < 0.05$ を有意と判定した.

結果

1. PBMC の HDM 抗原刺激による IL-10 産生について

1) HDM 抗原刺激による成人型 AD 患者 PBMC の IL-10 産生

AD 患者 PBMC の培養上清中の IL-10 値は, HDM 抗原量が 0~1 μ g/ml までは刺激用量に依存して増加したが, 10 μ g/ml では 1 μ g/ml に比して有意な増加はなかった (Fig. 1). PBMC 培養上清中 IL-10 値は AD

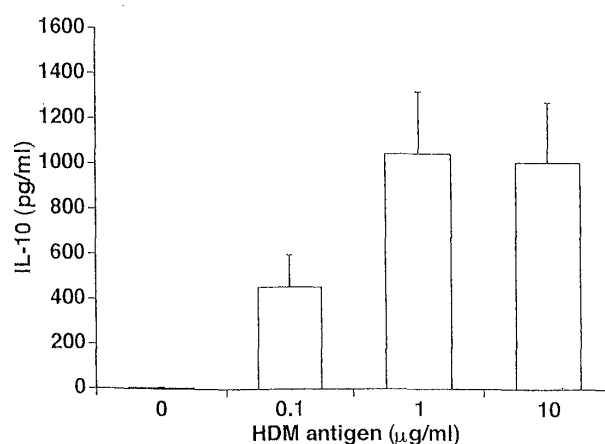


Fig. 1. IL-10 production by PBMC of AD patients stimulated with various doses of HDM antigen after 24h incubation. (n=5, mean $\pm$ SEM)

患者, 健常人ともに, HDM 抗原 (1 μ g/ml) 刺激により培養12時間以降経時的に増加した. 12時間, 24時間および72時間における AD 患者 PBMC 培養上清の IL-10 値 (12時間: 918.4 $\pm$ 206.5 pg/ml, 24時間: 1252.5 $\pm$ 145.8 pg/ml, 72時間: 1332.7 $\pm$ 123.9 pg/ml) は健常人 (12時間: 231.1 $\pm$ 139.0 pg/ml, 24時間: 585.7 $\pm$ 196.2 pg/ml, 72時間: 813.5 $\pm$ 181.8 pg/ml) に比し有意に高値であった (Fig. 2a). 同様に Con A (10 μ g/ml) 刺激により PBMC 培養上清中 IL-10 値は AD 患者, 健常人とも培養12時間以降経時的に増加した.

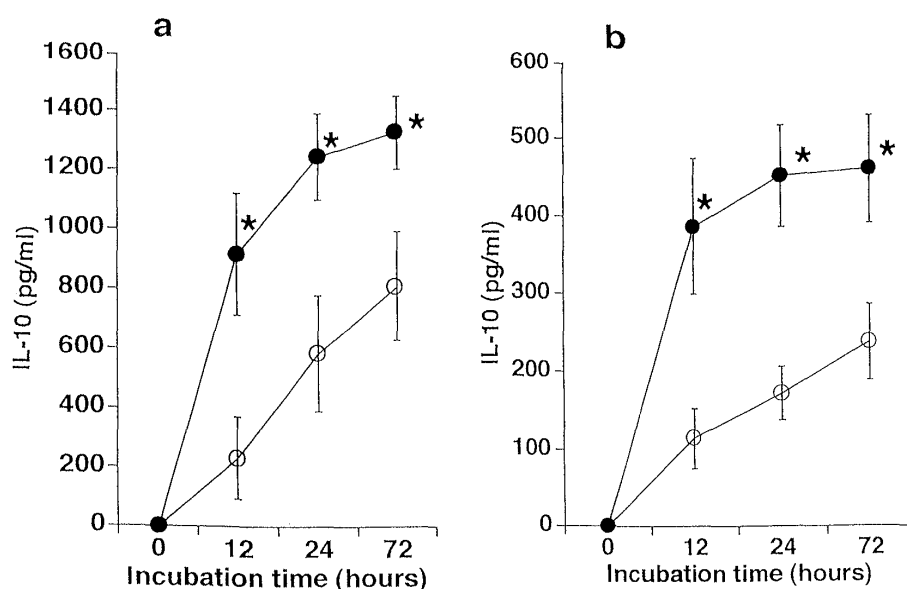


Fig. 2. IL-10 production by PBMC of AD patients and healthy controls stimulated with HDM antigen (a) or Con A (b) after 12-72h incubation. (closed circles: AD (n=6~9), open circles: healthy controls (n=4~11). mean $\pm$ SEM, *: $p < 0.05$)

Con A 刺激後の AD 患者 PBMC 培養上清の IL-10 値 (12 時間: 388.4 ± 87.2 pg/ml, 24 時間: 453.6 ± 65.7 pg/ml, 72 時間: 462.1 ± 69.4 pg/ml) は健常人 (12 時間: 114.0 ± 38.5 pg/ml, 24 時間: 171.9 ± 35.0 pg/ml, 72 時間: 239.5 ± 49.7 pg/ml) に比し有意に高値であった (Fig. 2b). grade 別の AD 患者の培養 24 時間における PBMC 培養上清中 IL-10 値は, G2: 1184.4 ± 303.2 pg/ml ($n=3$), G3: 1265.3 ± 167.1 pg/ml ($n=16$) で, 両者の間に統計学的有意差はなかった ($p < 0.846$). Con A 刺激と HDM 刺激, ともに 12 時間後の AD 患者 PBMC 培養上清中 IL-10 値の間には, 弱い正の相関がみられたが有意ではなかった ($r=0.305$, $p < 0.319$). また, AD 患者 PBMC の HDM 抗原 ($1 \mu\text{g/ml}$) 刺激時・無刺激時で IL-10 mRNA を RT-PCR 法にて検討したところ, HDM 刺激後 12, 24 時間でその増強を認めた (Fig. 3).

2) HDM 抗原刺激による成人型 AD 患者 PBMC の IFN- γ 産生

PBMC 培養上清中 IFN- γ 値は AD 患者, 健常人ともに, Con A ($10 \mu\text{g/ml}$) 刺激により培養 24 時間, 72 時間と経時的に増加した. 24 時間および 72 時間における AD 患者 PBMC 培養上清の IFN- γ 値 (24 時間: 608.2 ± 160.3 pg/ml, 72 時間: 1212.2 ± 348.8 pg/ml) は健常人 (24 時間: 1361.7 ± 126.9 pg/ml, 72 時間:

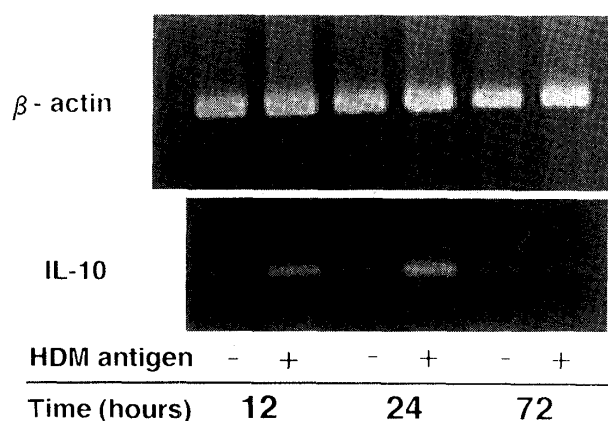


Fig. 3. IL-10 mRNA expression of AD patient stimulated with or without HDM antigen.

3243.5 ± 359.4 pg/ml) に比し有意に低値であった (Fig. 4a). HDM 抗原 ($1 \mu\text{g/ml}$) 刺激では, AD 患者, 健常人ともに PBMC 培養上清中 IFN- γ 値は培養 24 時間では測定限界以下であった. 培養 72 時間における AD 患者 PBMC 培養上清の IFN- γ 値 (480.1 ± 184.7 pg/ml) は健常人 (2165.6 ± 905.4 pg/ml) に比し有意に低値であった. また, 無刺激時においても, AD 患者 PBMC の IFN- γ 値 (24.7 ± 9.0 pg/ml) は健常人の値 (314.4 ± 133.4 pg/ml) に比して有意に低値であった (Fig. 4b). AD 患者および健常人 PBMC の IFN- γ

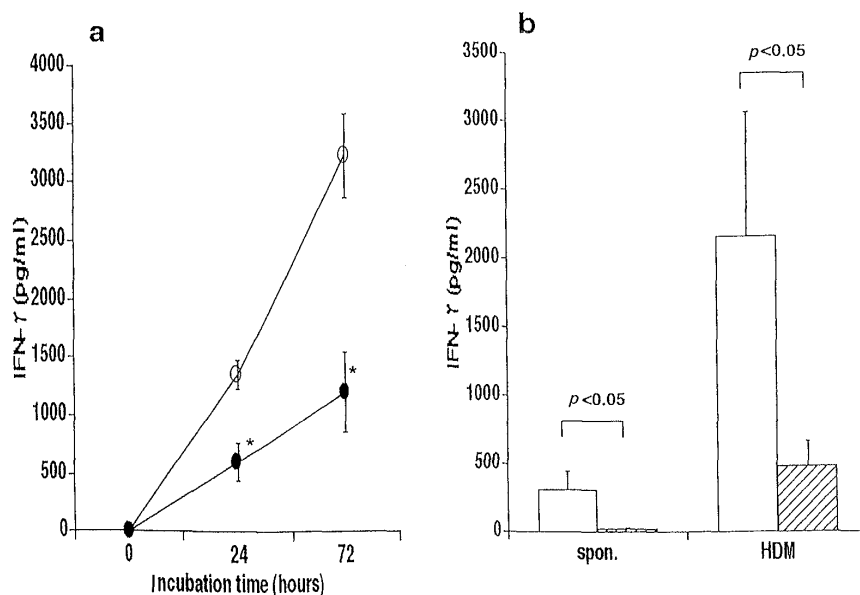


Fig. 4. IFN- γ production by PBMC of AD patients and healthy controls stimulated with Con A after 24-72h incubation (a) and stimulated with or without HDM antigen after 72h incubation (b). (closed circles: AD ($n=8$), open circles: healthy controls ($n=4$), hatched bars: AD ($n=10$), open bars: healthy controls, mean $\pm$ SEM, *: $p < 0.05$, spon.: spontaneous)

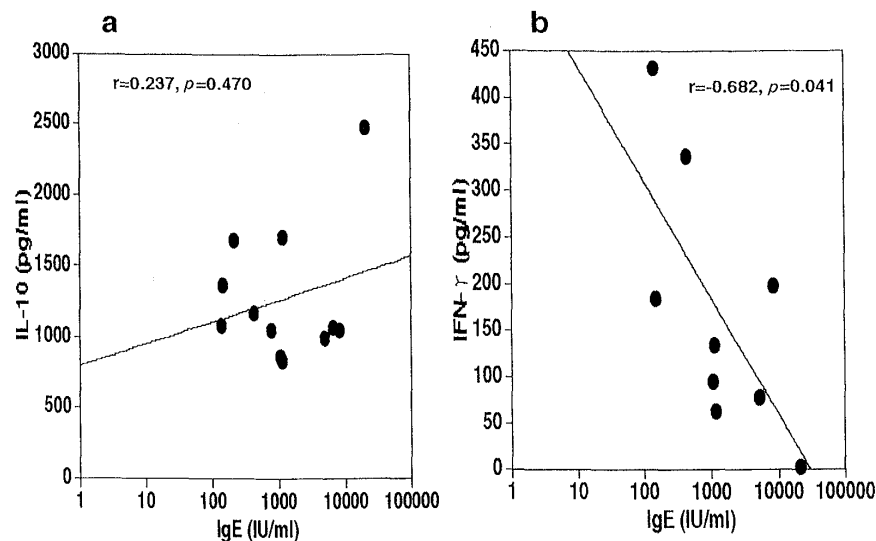


Fig. 5. Relationship between serum IgE levels and IL-10 (a) or IFN- γ (b) production of PBMC of AD patients stimulated with HDM antigen.

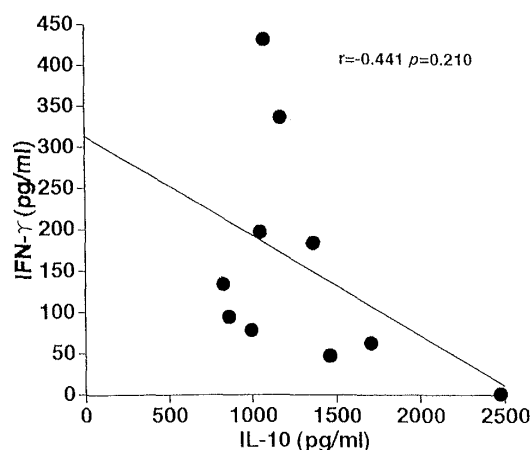


Fig. 6. Relationship between IL-10 and IFN- γ production of PBMC of AD patients stimulated with HDM antigen after 72h incubation.

mRNA を RT-PCR 法にて検討したが、HDM 抗原 (1 μ g/ml) 刺激時・無刺激時ともに 24, 48 時間でバンドは検出されなかった。

3) 成人型 AD 患者の血中 IgE (RIST, RAST) と PBMC の IL-10 および IFN- γ 産生量の関係

AD 患者の IgE-RIST 値と HDM 抗原 (1 μ g/ml) 72 時間刺激による PBMC の IL-10 および IFN- γ 産生量との相関を検討した。IL-10 値と IgE-RIST 値との間には明らかな相関は認められなかった ($r=0.237$, $p=0.470$, Fig. 5a) が、IFN- γ 値と IgE-RIST 値とは有意な負の相関を示した ($r=-0.682$, $p=0.041$, Fig. 5b)。一方、HDM 抗原刺激後 72 時間後の AD 患者

PBMC の IL-10 および IFN- γ 産生量は、負の相関傾向を示したが有意ではなかった ($r=-0.441$, $p=0.210$, Fig. 6)。

考 案

近年、AD の発症機序に関して Th2 細胞由来のサイトカインである IL-4, IL-5 などと IgE との関与が指摘され、その皮疹部における Th2 細胞の浸潤によるサイトカイン・ネットワークの dysregulation⁶⁾⁻⁸⁾ が皮疹出現に役割を演じていると推定されている。IL-10 は、マウスにおいて、Th2 型 T 細胞が産生する、Th1 型 T 細胞による IFN- γ 産生を抑制する物質として発見された¹⁴⁾。また、IL-10 は活性化 B 細胞の増殖を促進し、IL-4 とともに IgE 産生系 B リンパ球に促進的に働くことも知られている¹⁵⁾¹⁶⁾。

われわれは、成人型 AD 患者の皮疹部で炎症性細胞などにより産生される IL-10 に着目し、既に教室の小嶋ら¹³⁾が、AD 患者 PBMC は HDM 抗原刺激により IL-10 を過剰産生することを報告しているが、今回は AD 患者 PBMC を HDM 抗原と Con A で刺激して IL-10 産生を検討し、さらに、IFN- γ 産生量および血中 IgE 値との関連についても検討した。

AD 患者の PBMC は HDM 抗原の用量依存的に IL-10 を産生し (Fig. 1)、HDM 抗原刺激後 12 時間から検出され、72 時間まで経時的に上昇し、その産生能は

健常人に比し亢進していた (Fig. 2a). さらに, Con A 刺激時において AD 患者 PBMC の IL-10 産生は健常人に比し増加していた (Fig. 2b). これらの成績から, AD 患者の PBMC は抗原や mitogen に対して IL-10 産生につき反応性が亢進しており, 過剰産生することが示唆された. AD 患者および健常人ともに, HDM 抗原刺激時に比べて Con A 刺激時の IL-10 の増加は軽度であった.

Ohmen ら¹²⁾は PBMC を T 細胞と単球に分離し, AD 患者の単球から産生された IL-10 は健常人に比し有意に高いことを報告している. われわれの実験系では単球とリンパ球を分離していないが, 単球からも IL-10 が産生された可能性が考えられる.

一方, AD 患者 PBMC の IFN- γ 産生量は無刺激時, HDM 抗原および Con A 刺激時に健常人に比して低値であった (Fig. 4). AD 患者では Th1 型 T 細胞の機能抑制が示唆され, 健常人と比較して Th2 型サイトカイン産生能が Th1 型サイトカイン産生能に比して優位であることを示していた. 今回検討していないが, AD 患者では単球由来の Prostaglandin E₂ が高値で, T 細胞の IFN- γ 産生低下をもたらすとの報告もある¹⁸⁾.

なお, AD 患者, 健常人ともに, Con A 刺激時には HDM 抗原刺激時よりも IFN- γ 産生は高値で, IL-10 産生は低値であった. Con A は Th1, Th2 型 T 細胞の両者を刺激する. 両者が産生するサイトカインが相互に抑制しあった結果, HDM 抗原刺激時に比べて IFN- γ が上がりやすく IL-10 が上がりにくい可能性が推察される.

AD 病変部に浸潤している T 細胞や AD 患者末梢血 T 細胞は IL-4, 5, 6 などの Th2 型サイトカインを過剰に産生することが既に報告されている^{6)7)9)–13)}. 皮膚侵入抗原の末梢血リンパ球に及ぼす影響については, 白癬患者の PBMC を白癬菌の菌体成分であるトリコフィチンで刺激すると IFN- γ が産生されることが報告されており¹⁹⁾, 皮膚の炎症の場で抗原刺激を受けたリンパ球が末梢血中に流れ込んでいることを示している. また, ツベルクリン皮内反応陽性者の PBMC をツベルクリン抗原で刺激すると thymidine uptake ならびにサイトカイン産生が起きることも報告されており²⁰⁾, 皮膚に存在するリンパ球は末梢血中のリンパ球が皮膚に recruit していることを示している. これらの現象は HDM 抗原の場合でも同様と考えられる.

今回, RT-PCR 法にて AD PBMC の IL-10 と IFN- γ

の mRNA 検出を試みた. IL-10 では HDM 刺激 12, 24 時間でバンドが増強した (Fig. 3). HDM 抗原が抗原提示細胞を介して IL-10 の産生を増強している可能性が推察された. タンパクレベルで IFN- γ の産生は培養 72 時間まで経時的に増加していたが, mRNA は 24, 48 時間では検出されなかった. ただし, 健常人の mRNA も検出されなかったため, AD で疾患特異的に発現が弱いとは言えない. Tang らは PMA 刺激後 6 時間で mRNA を検出し, 12 時間で消失していると報告しており²¹⁾, 培養時間等の条件につきさらに検討が必要と思われる.

AD 患者 PBMC の IL-10 産生量・IFN- γ 産生量と IgE-RIST 値との関連の検討では, HDM 抗原刺激による IL-10 産生量と血中 IgE-RIST 値には明確な相関は得られなかった (Fig. 5a) が, IFN- γ 産生量と血中 IgE-RIST 値は負の相関の傾向が認められた (Fig. 5b). 血中の IgE 値の上昇には他の多くの因子も関与していることを反映しているものと考えられる.

環境抗原の HDM は AD の増悪因子であり²²⁾²³⁾, AD 病変部ではランゲルハンス細胞に存在する IgE 抗体にトラップされ, T 細胞を主体とした炎症を引き起こすことが知られている²⁴⁾²⁵⁾. われわれの実験結果から AD 患者では HDM 抗原の刺激によりその単核球から IL-10 を過剰産生する可能性が示唆され, これは IL-10 の作用, 特に Th1 型 T 細胞のサイトカイン産生を抑制し, Th2 型 T 細胞のサイトカイン産生を増強させることにより, AD 症状の増悪に関与すると考えられる. さらに, IL-10 は肥満細胞の増殖を促進することも報告されている¹⁶⁾. 肥満細胞は脱顆粒および IL-4, tumor necrosis factor (TNF) α などのサイトカイン産生により局所の炎症を促進するため, IL-10 が肥満細胞の機能に影響している可能性も推定される. 今回の結果から, AD 患者 PBMC では, HDM 抗原により早い時期に Th2 型サイトカインである IL-10 が過剰に産生されることが示された. IL-10 は Th1 型 T 細胞の IFN- γ 産生を抑制する¹⁴⁾と考えられることから, Th2 型優位のサイトカイン産生が起こり, 主として Th2 型 T 細胞が浸潤して AD 皮膚病変形成に関与している可能性が推察される. AD 病変部においては, 浸潤した単核球からのサイトカイン, 表皮細胞および真皮側の種々の細胞が産生する多くのサイトカインが相互に作用してサイトカイン・ネットワークを形成し, 皮膚病変の進行と抑制が起こっていると考えられる.

文 献

- 1) Sulzberger, M.B., Spain, W.C., Sammis, F. and Shahon, H.I.: Studies of hypersensitiveness in certain dermatoses. *J. Allergy* 3, 423-437, 1932.
- 2) 西岡 清, 向井秀樹, 上村仁夫, 堀内保宏, 伊藤 篤, 他: 重症成人型アトピー性皮膚炎患者の経過. 日皮会誌 98, 873-877, 1988.
- 3) 笠松正憲, 辻 卓夫: アトピー性皮膚炎患者に対する抗アレルギー剤内服治療と血清 interleukin-4 値の変化. 臨皮 48, 221-224, 1994.
- 4) Tupker, R.A., Pinnagoda, J., Coenraads, P.J. and Nater, J.P.: Susceptibility to irritants; role of barrier function, skin dryness and history of atopic dermatitis. *Br. J. Dermatol.* 123, 199-205, 1990.
- 5) Pike, M.G., Heddle, R.J., Boulton, P., Turner, M.W. and Atherton, D.J.: Increased intestinal permeability in atopic eczema. *J. Invest. Dermatol.* 86, 101-104, 1986.
- 6) van Reijssen, F.C., Bruijnzeel-Koomen, C.A.F.M., Kalthoff, F.S., Maggi, E., Romagnani, S., et al.: Skin-derived aeroallergen-specific T-cell clones of Th2 phenotype in patients with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 90, 184-192, 1992.
- 7) Sager, N., Feldmann, A., Schilling, G., Kreitsch, P. and Neumann, C.: House dust mite-specific T cells in the skin of subjects with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 89, 801-810, 1992.
- 8) 笠松正憲, 辻 卓夫, 三浦真理子: 高感度 interleukin-4 測定法 (Sandwich ELISA 法) とアトピー性皮膚炎患者における血清値について. アレルギー 42, 878-882, 1993.
- 9) Toshiyoshi, A., Ansel, J.C., Chan, S.C., Li, S. and Hanifin, J.M.: Increased interleukin 6 production by T cells derived from patients with atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 100, 299-304, 1993.
- 10) 吉川康之, 元木良和, 丸山幸治, 小嶋幸夫, 岩月啓氏, 他: 成人型アトピー性皮膚炎患者の血清 interleukin (IL)-6 と house dust mite 抗原刺激による末梢血単核球の IL-6 産生について. 日皮会誌 104, 1339-1345, 1994.
- 11) 吉川康之, 丸山幸治, 張 建中, 小嶋幸夫, 金子史男: アトピー性皮膚炎の苔癬化病変部表皮における proliferating cell nuclear antigen 表現と interleukin-6. 日皮会誌 105, 123-129, 1995.
- 12) Ohmen, J.D., Hanifin, J.M., Nickoloff, B.J., Rea, T.H., Wyzykowski, R., et al.: Overexpression of IL-10 in atopic dermatitis: Contrasting cytokine patterns with delayed-type hypersensitivity reactions. *J. Immunol.* 154, 1956-1963, 1995.
- 13) 小嶋幸夫, 吉川康之, 西部明子, 金子史男: アトピー性皮膚炎患者末梢血単核球のサイトカイン産生に対する抗アレルギー剤の影響. 日皮会誌 106, 395-402, 1996.
- 14) Fiorentino, D.F., Bond, M.W. and Mosmann, T. R.: Two types of mouse T helper cell IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J. Exp. Med.* 170, 2081-2095, 1989.
- 15) Rousset, F., Garcia, E., Defrance, T., Péronne, C., Vezzio, N., et al.: Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 1890-1893, 1992.
- 16) 石田 博: インターロイキン-10. 臨床免疫 27(Suppl. 16), 97-106, 1995.
- 17) 阿南貞雄, 赤星吉徳, 吉村正子, 牛島信雄, 吉田彦太郎, 他: アトピー性皮膚炎における enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いた抗ダニ (*Dermatophagoides farinae*) 抗体の測定. アレルギー 31, 244-251, 1982.
- 18) Chan, S.C., Kim, J., Henderson, W.R. and Hanifin, J.M.: Altered prostaglandin E₂ regulation of cytokine production in atopic dermatitis. *J. Immunol.* 151, 3345-3352, 1993.
- 19) Koga, T., Ishizaki, H., Matsumoto, T. and Hori, Y.: Cytokine production of peripheral blood mononuclear cells in a dermatophytosis patient in response to stimulation with trichophyton. *J. Dermatol.* 20, 441-443, 1993.
- 20) Henderson, D.C. and Rippin, J.J.: Stimulus-dependent production of cytokines and pterins by peripheral blood mononuclear cells. *Immunol. Lett.* 45, 29-34, 1995.
- 21) Tang, M.L.K., Varigos, A. and Kemp, A.S.: Reduced interferon-gamma (IFN- γ) secretion with increased IFN- γ mRNA expression in atopic dermatitis; evidence for a post-transcriptional defect. *Clin. Exp. Immunol.* 97, 483-490, 1993.
- 22) 伊藤 篤, 向井秀樹, 西岡 清: アトピー性皮膚炎患者のダニ貼付試験, 病理組織学的検討. 日皮会誌 100, 63-69, 1990.
- 23) Platts-Mills, T.A.E., Mitchell, E.B. Rowntree, S., Chapman, M.D. and Wilkins, S.R.: The role of dust mite allergens in atopic dermatitis. *Clin. Exp. Dermatol.* 8, 233-247, 1983.
- 24) Maeda, K., Yamamoto, K., Tanaka, Y., Anan, S. and Yoshida, H.: House dust mite (HDM)

antigen in anturally occurring lesions of atopic dermatitis (AD); the relationship between HDM antigen in the skin and HDM antigen specific IgE antibody. *J. Dermatol. Sci.* 3, 73-77, 1992.

25) Maeda, K., Yamamoto, K., Tanaka, Y., Anan,

S. and Yoshida, H.: The relationship between eosinophils, OKT-6-positive cells and house dust mite (HDM) antigens in naturally occurring lesions of atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.* 3, 151-156, 1992.

THE CORRELATION BETWEEN INTERLEUKIN-10 AND INTERFERON- γ PRODUCED BY
PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS STIMULATED BY HOUSE
DUST MITE ANTIGEN IN ATOPIC DERMATITIS

Yoshikazu Motoki, Yasuyuki Kikkawa, Yukio Kojima,
Takashi Matsui and Fumio Kaneko
Department of Dermatology, Fukushima Medical College

The prroduction of interleukin (IL)-10 and interferon (IFN)- γ by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) stimulated by house dust mite (HDM)antigen and concanavaln A (Con A) was measured in patients with atopic dermatitis (AD). The HDM-stimulated PBMC from AD patients revealed to produce significantly higher levels of IL-10 (12 h: 918.4 ± 206.5 , 24 h: 1252.5 ± 145.8 , 72 h: 1332.7 ± 123.9 pg/ml) than those from normal control subjects (12 h: 231.1 ± 139.0 , 24 h: 585.7 ± 196.2 , 72 h: 813.5 ± 181.8 pg/ml). Con A-stimulated AD-PBMC also showed significantly higher levels of IL-10 production than those from normal controls, although they were lower than the productions induced by HDM antigen. By contrast, the levels of IFN- γ from AD PBMC stimulated with HDM or Con A, were significantly lower than those from normal controls. IFN- γ production might be down-regulated by IL-10 in AD-PBMC. The overproduction of IL-10 seems to show that helper T type 2 (Th2) cells are rather dominantly activated than Th1 cells and Th2 cells might contribute to produce the cytokines in response to HDM antigen in AD patients.
