

〔原著〕

## 炎症性腸疾患の末梢血単核球における サイトカイン産生能の比較検討

中 村 貢\*

(平成3年5月21日受付, 平成3年6月4日受理)

### 要 旨

炎症性腸疾患 (IBD) 患者の末梢血単核球におけるサイトカイン産生能を測定し, また IBD の病態との相関の有無について検討した。同時に末梢血の白血球分画および Tリンパ球サブセットについても解析した。対象は潰瘍性大腸炎 (UC) 患者35名と Crohn 病 (CD) 患者14名, および対照として年齢の一致した健常者 (C) 15名を用いた。末梢血単核球のインターロイキン 1 ベータ (IL-1 $\beta$ ) 産生能は活動期の UC (UC-A) および CD (CD-A) 患者で C に比べ有意に増加していたが, 非活動期では C のレベルと同じであった。さらに IL-1 $\beta$  産生能と病勢とを比較検討した結果, IL-1 $\beta$  産生能は活動期の UC 患者における ulcerative colitis activity index (UCAI) と, また活動期の CD 患者における Crohn's disease activity index (CDAI) と有意な正の相関を示した。インターロイキン 2 (IL-2) 産生能は活動期の UC 患者で C に比べ有意に増加していたが, 非活動期では C のレベルと同じであった。一方 CD 患者の IL-2 産生能は活動期および非活動期ともに C と比べ変化を認めなかった。さらに IL-2 産生能は活動期の UC 患者における UCAI と有意な正の相関を示した。ガンマインターフェロン ( $\gamma$ -IFN) 産生能は UC および CD 患者の活動期および非活動期とも C と比べ変化を認めなかった。末梢血白血球および単球数は活動期の UC および CD 患者で C に比べ有意に増加していた。また末梢血 Tリンパ球のサブセット (OKT 4 および OKT 8) および OKT 4/OKT 8 の比率は UC および CD 患者とも C と比べ違いは認められなかった。これらの結果より, IBD では末梢血単核球のサイトカイン産生能に異常が存在するが, UC と CD では IL-2 産生能に相違があることより, それぞれの疾患における免疫学的異常に違いがあることが推測された。さらに IBD 患者の末梢血単核球における IL-1 $\beta$ , あるいは IL-2 産生能は IBD の病勢を反映し得る可能性が新たに示唆された。

**Key words:** 炎症性腸疾患, インターロイキン 1 $\beta$ , インターロイキン 2,  $\gamma$ -インターフェロン, UCAI, CDAI

**略語一覧:** IBD: 炎症性腸疾患, UC: 潰瘍性大腸炎, CD: Crohn 病, IL-1 $\beta$ : インターロイキン 1 ベータ, IL-2: インターロイキン 2,  $\gamma$ -IFN: ガンマインターフェロン, UCAI: ulcerative colitis activity index, CDAI: Crohn's disease activity index, MNL: 末梢血単核球

### I. 緒 言

サイトカインは免疫炎症反応において重要な役割を演

じていると考えられており, 最近炎症性腸疾患, すなわち UC および CD の病態におけるサイトカインの役割が注目されている。Mahida ら<sup>1)</sup>は IBD 患者の大腸粘膜

\* 千葉大学医学部内科学第二講座

Mitugi NAKAMURA: Cytokine Production in Patients with Inflammatory Bowel Disease. The Second Department of Internal Medicine, School of Medicine, Chiba University, Chiba 280. Received May 21, 1991. Accepted June 4, 1991.

に浸潤した単核球の IL-1 $\beta$  産生能の増加を報告し、IL-1 $\beta$  が局所の免疫炎症反応に深く関与している可能性を示唆している。また Fiocchi ら<sup>2)</sup>は IBD 患者より採取した大腸粘膜中の単核球の IL-2 産生能の低下を報告し、大腸粘膜局所の IL-2 産生細胞の機能障害を推察している。一方 Ming ら<sup>3)</sup>は IBD 患者の MNL での IL-2 産生能は健常人と差がなかったと報告している。さらに Mutchnick ら<sup>4)</sup>は IBD 患者の MNL の  $\gamma$ -IFN 産生能の低下を、また Miura 及び Hiwatashi ら<sup>5)</sup>も CD 患者における MNL の  $\gamma$ -IFN 産生能の低下を報告している。他方、Bass ら<sup>6)</sup>は IBD 患者の MNL において  $\gamma$ -IFN 産生能が健常人と比べ差がなかったと報告している。これらのサイトカインすなわち IL-1, IL-2 および  $\gamma$ -IFN は IBD の病態において重要な役割を演じていると考えられているが、上述のごとく、IBD 患者の MNL のサイトカイン産生能異常についてはいまだ統一した見解が得られていない。

ところで、免疫反応においては各種サイトカインが相互に作用しあい、いわゆるサイトカインカスケードを形成していると考えられている。すなわち、抗原刺激により単球から IL-1 が産生され、次に IL-1 が helper/inducer T cell からの IL-2 産生を誘導する<sup>7)</sup>。さらに IL-2 により T cell subgroup から  $\gamma$ -IFN が産生誘導される<sup>8)</sup>。また、 $\gamma$ -IFN は単球からの IL-1 産生を促進する作用も知られている<sup>9)</sup>。従って IBD におけるサイトカインの役割を解明するためには各種サイトカインを同時に測定し検討する必要があると思われる。このような背景に基づいて今回の研究では活動期あるいは非活動期の UC および CD 患者の MNL の IL-1 $\beta$ , IL-2, および  $\gamma$ -IFN の産生能を同時に測定するとともに、サイトカイン産生能と IBD の病勢についても検討し、新たな知見を得たので報告する。

## II. 実験方法

### (1) 材料

RPMI 1640培養液および fetal calf serum (FCS) は Grand Island Biological Company (NY, USA) より購入した。Concanavalin A (con A) は Sigma Chemical Company (St. Louis, MO., USA) より購入した。OKT 4 および OKT 8 monoclonal antibody は Ortho Diagnostic Systems Inc. (Raritan, NJ, USA) より購入した。IL-1 $\beta$  ELISA kit は Ostuka Assay Laboratory (Tokushima, Japan) より、IL-2 RIA kit は Amersham International Plc. (London, UK) より、また  $\gamma$ -IFN RIA kit は Centcore Inc. (Malvern, PA,

USA) より購入した。

### (2) 対象

対象は UC 患者35名 (男性23名, 女性12名, 平均年齢27.5歳), CD 患者14名 (男性12名, 女性2名, 平均年齢20.4歳), 対照として年齢の一致した健常人15名 (男性11名, 女性4名, 平均年齢23.5歳) を選んだ。

UC および CD は臨床学的, 内視鏡学的, レントゲン学および病理学的に診断した。UC の活動性の評価としては Yoshikawa ら<sup>10)</sup>が1984年国際消化器病学会で発表した ulcerative colitis activity index (UCAI) を用い、最大値を100%とし、20%以上を活動期とした。他方 CD の活動性の評価としては従来用いられている Crohn's disease activity index (CDAI)<sup>11)</sup> を使用し、150以上を活動期とした。

### (3) 方法

#### a) 末梢血単核球の分離

MNL はチトラート加末梢血より Ficoll-Isopaque を用いた比重遠沈法 (400 $\times$ G, 30分, 室温) で分離し、phosphate buffered saline (PBS) で二度洗浄したのち実験に供した。同時に末梢血白血球数および白血球分画も測定した。

#### b) サイトカインの産生

MNL を RPMI 1640培養液 (5% FCS, 40 $\mu$ g/ml gentamycin を含む) で200万 MNL/ml に調整し、終濃度7.5 $\mu$ g/ml の con A を加え、96穴の micro culture plate (Corning, USA, round-bottomed) に250 $\mu$ l ずつ分注した。この細胞を5% CO<sub>2</sub>, 95% air の存在下に37 $^{\circ}$ C で24時間培養した。その後、培養上清を分離しサイトカインの測定を実施するまでの間-70 $^{\circ}$ C で凍結保存した。

#### c) IL-1 $\beta$ , IL-2, および $\gamma$ -IFN の定量

培養上清中の IL-1 $\beta$ , IL-2, および  $\gamma$ -IFN の測定は特異的な ELISA 法あるいは RIA 法を用いて行った。測定はそれぞれの kit のマニュアルに従いすべて duplicate で行った。それぞれの検体に含まれるサイトカイン量は標準曲線により求めた。各々の kit の感受性は IL-1 $\beta$  は15.6~500pg/ml, IL-2 は10~500pg/ml,  $\gamma$ -IFN は0.1~50U/ml であった。またそれぞれの抗体の cross reactivity は、抗 IL-1 $\beta$  抗体は IL-1 $\alpha$ , IL-2, TNF- $\alpha$  と交差せず、抗 IL-2 抗体は IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-3, IL-4,  $\gamma$ -IFN と交差せず、また抗  $\gamma$ -IFN 抗体は  $\alpha$ -IFN,  $\beta$ -IFN, IL-1, IL-2 と交差しないことが確認されている。それぞれのサイトカイン産生量は mean $\pm$ SD で表示した。

#### (4) 末梢血Tリンパ球サブセットの解析

末梢血のTリンパ球サブセットは OKT 4 および OKT 8 のモノクローナル抗体を用いた indirect fluorescent staining procedure によって解析した。すなわち50 $\mu$ l の全血を FITC にて標識した OKT 4 および OKT 8 monoclonal antibody と混ぜ4 $^{\circ}$ C で30分反応させた。その後赤血球を0.82% NH<sub>4</sub>Cl と室温で15分間反応させることにより溶解した。標識されたリンパ球のサブセットを FACS (FCM-1, Japan Spectroscopic Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いて解析した。

(5) 統計学的処理

統計的有意差は non-paired あるいは paired Student's t-test を用いて検討した。サイトカイン産生能とUCAI あるいは CDAI の相関は市販のソフトウェア STAX を用いて解析した。

III. 結果

a) IL-1 $\beta$  産生能

活動期 (A) の UC および CD 患者において、MNL の IL-1 $\beta$  産生能は健常者に比べ有意に増加していた (C, 912.9 $\pm$ 364.0pg/ml : UC-A, 1950.7 $\pm$ 1471pg/ml, p<0.01 : CD-A, 2445.4 $\pm$ 1508pg/ml, p<0.01) (図

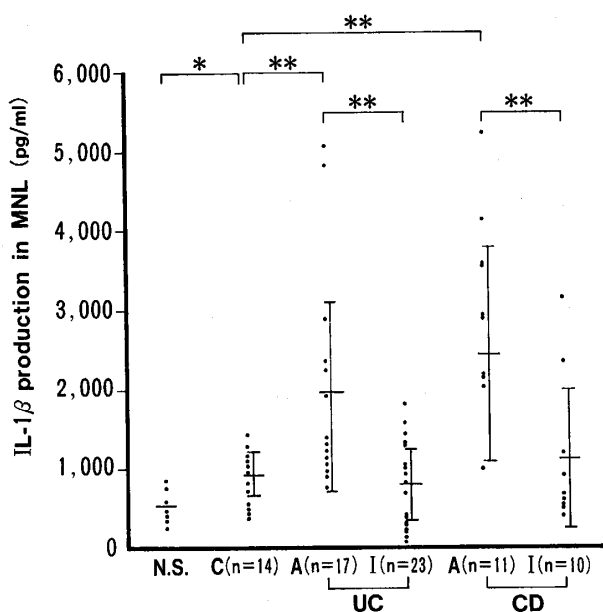


図 1. IBD 患者の MNL における IL-1 $\beta$  産生能。MNL (2 $\times$ 10<sup>6</sup> cells/ml) を終濃度7.5  $\mu$ g/ml の con A と共に 24 時間, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 95% air 下で培養した。縦軸は IL-1 $\beta$  産生量を, 横軸は対象を示す。N.S.: not stimulated with con A, C: control subjects, A: active stage, I: inactive stage. IL-1 $\beta$  産生量は mean $\pm$ SD で示す。  
\* p<0.05, \*\* p<0.01.

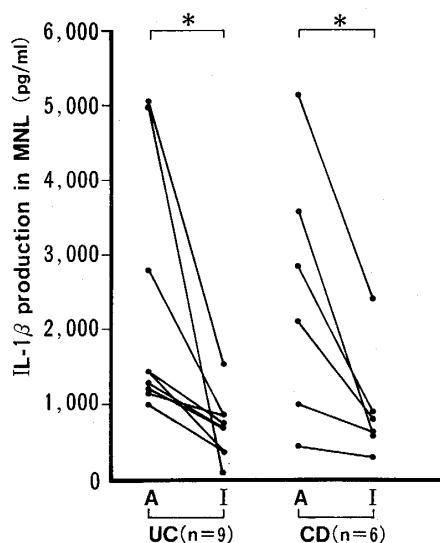


図 2. 同一の IBD 患者の活動期および非活動期の MNL における IL-1 $\beta$  産生能の比較検討。実験条件は図 1 に示したものと同様である。対象数は括弧内に示す。  
\* p<0.05

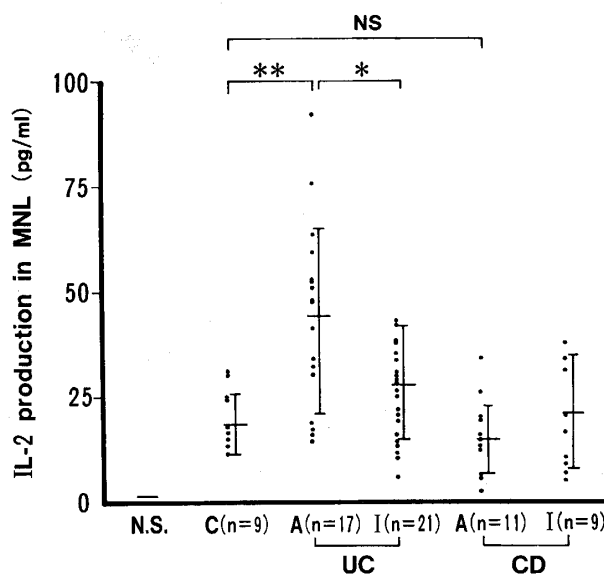


図 3. IBD 患者の MNL における IL-2 産生能。実験条件は図 1 に示したものと同様である。縦軸は IL-2 産生量を, 横軸は対象を示す。IL-2 産生能は mean $\pm$ SD で示す。  
\* p<0.05, \*\* p<0.01

1)。しかし非活動期においては健常者と同じレベルであった。また同一患者における活動期, 非活動期の IL-1 $\beta$  産生能を検討した結果, UC および CD 患者ともに IL-1 $\beta$  産生能は非活動期に比べ活動期において有意に増加していた (図 2)。

b) IL-2 産生能

MNL の IL-2 産生能は活動期の UC 患者で健常者

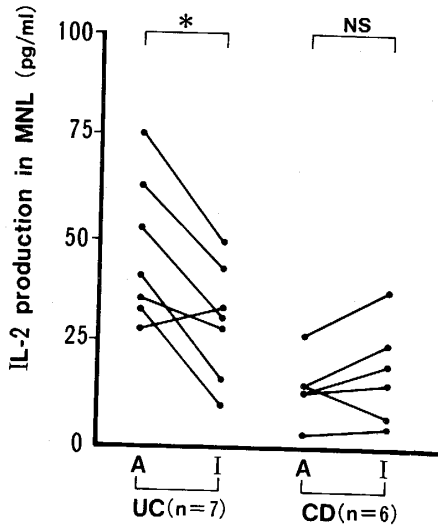


図 4. 同一の IBD 患者の活動期および非活動期の MNL における IL-2 産生能の比較。実験条件は図 1 に示したものと同様である。対象数は括弧内に示す。  
\* p < 0.05

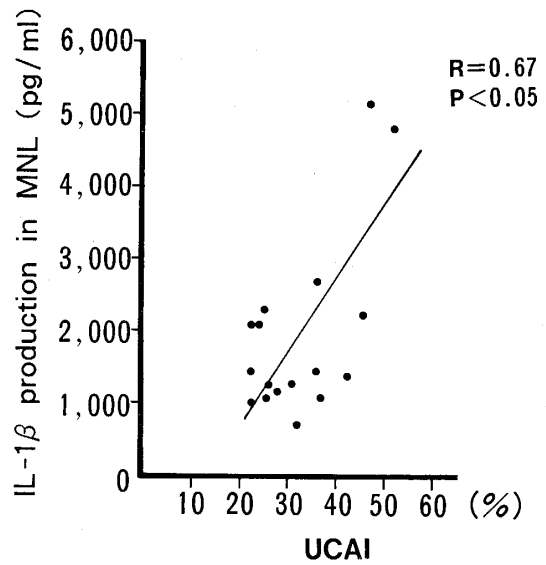


図 6. 活動期の UC 患者の MNL における IL-1β 産生能と UCAI との相関。縦軸は IL-1β 産生量を、横軸は UCAI を示す。

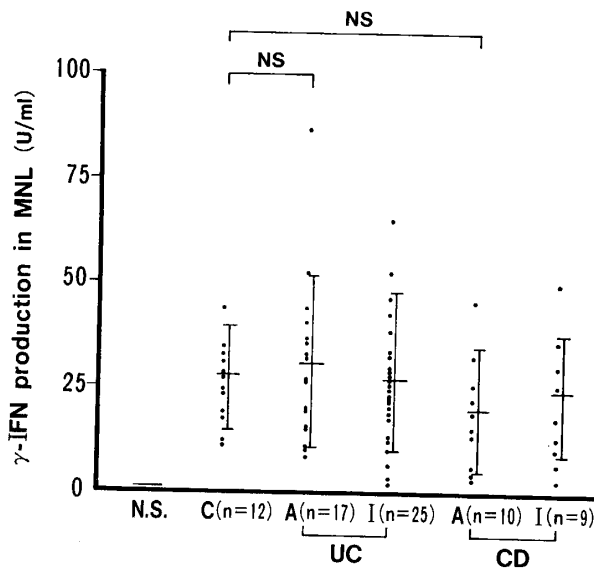


図 5. IBD 患者の MNL における γ-IFN 産生能。実験条件は図 1 に示したものと同様である。縦軸は γ-IFN 産生量を、横軸は対象を示す。γ-IFN 産生能は mean ± SD で示す。

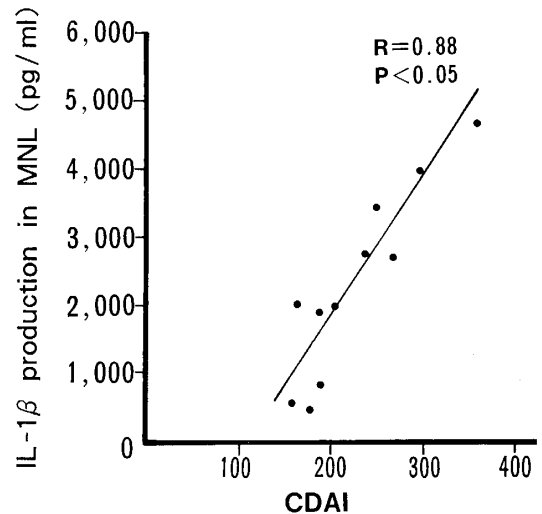


図 7. 活動期の CD 患者の MNL における IL-1β 産生能と CDAI との相関。縦軸は IL-1β 産生量を、横軸は CDAI を示す。

に比べ有意に増加していた (C,  $18.6 \pm 7.0$  pg/ml : UC-A,  $43.1 \pm 20.6$  pg/ml,  $p < 0.01$ ) (図 3)。一方、非活動期においては健常者と同じレベルであった。CD 患者では活動期、非活動期ともに健常者と同じであった。同一患者における活動期、非活動期の IL-2 産生能の検討では、活動期の UC 患者において非活動期に比べ有意に増加していた (図 4)。

c) γ-IFN 産生能

活動期および非活動期の UC と CD 患者の MNL の γ-IFN 産生能は健常者と同じであった (図 5)。

d) サイトカイン産生能と UCAI あるいは CDAI との相関

活動期の UC 患者における MNL の IL-1β 産生能および IL-2 産生能は UCAI と有意な相関を示した (それぞれ  $r=0.67$ ,  $p < 0.05$ , 図 6;  $r=0.68$ ,  $p < 0.05$ , 図 8)。

一方、活動期の CD 患者においては IL-1β 産生能と CDAI に有意な相関が認められた ( $r=0.88$ ,  $p < 0.05$ ,

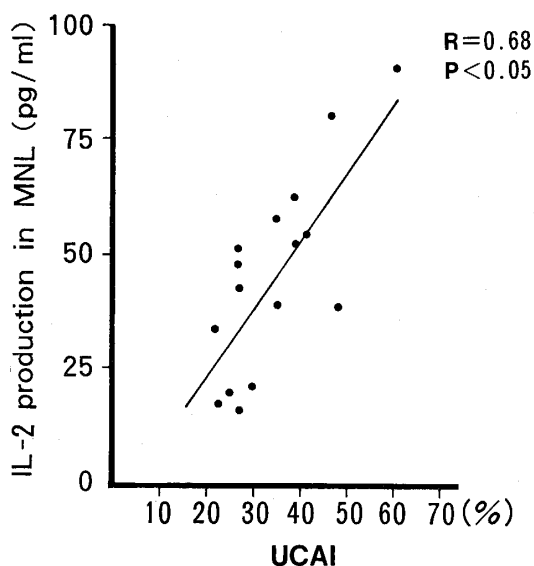


図 8. 活動期の UC 患者の MNL における IL-2 産生能と UCAI との相関。縦軸は IL-1 $\beta$  産生量を、横軸は UCAI を示す。

図 7)。

e) 末梢血白血球数, およびその分画

末梢血白血球数は活動期の UC および CD 患者で健常者に比べ有意に増加していた (C, 5857 $\pm$ 814 : UC-A, 8884 $\pm$ 2763/ml,  $p < 0.05$  : CD-A, 9718 $\pm$ 2560/ml,

$p < 0.05$ ) (図 9)。しかし非活動期では健常者と同じであった。白血球分画では単球が活動期の UC および CD 患者で健常者に比べ有意に増加していた (C, 5.1 $\pm$ 1.4% : UC-A, 7.4 $\pm$ 5.4%,  $p < 0.05$  : CD-A, 7.1 $\pm$ 5.8%,  $p < 0.05$ ) (図 9)。末梢血のリンパ球数は UC および CD 患者で健常者に比べ有意な変化を認めなかった。

f) 末梢血 T リンパ球サブセットの解析

UC および CD 患者において活動期および非活動期ともに健常者と比べ T リンパ球サブセットに差を認めなかった。また T リンパ球サブセットの OKT 4 と OKT 8 の比率も健常者と同じであった (表 1)。

### VI. 考 察

今回の研究では、活動期の CD 患者において MNL の IL-1 $\beta$  産生能は健常者と比べ有意に増加していることが判明した。同様に Satsangi ら<sup>12)</sup>も活動期の CD 患者において MNL の IL-1 $\beta$  産生能の増加を報告している。さらに今回の研究においては、新たに活動期の UC 患者においても MNL の IL-1 $\beta$  産生能が有意に増加していることが明らかとなった。Mahida ら<sup>13)</sup>は IBD 患者の大腸粘膜から分離した単核球における IL-1 $\beta$  産生能が有意に増加していることを報告しており、彼らは IL-1 $\beta$  の由来を局所に浸潤した活性化された単球と推測

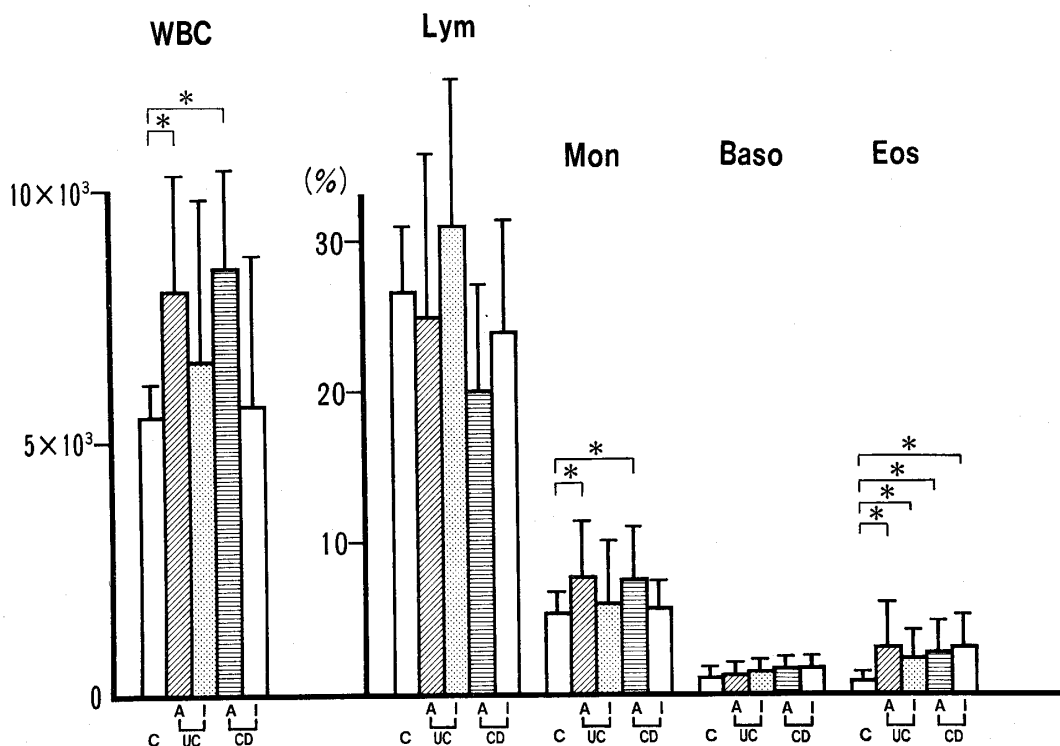


図 9. IBD 患者の末梢血白血球数および白血球分画の検討。縦軸は末梢血白血球数あるいは白血球分画の比率を示す。横軸は対象を示す。

\*  $p < 0.05$

表 1. IBD 患者の末梢血 T リンパ球サブセットの検討

Study group	OKT4(%)	OKT8(%)	T4/T8	
UC	active	41.1±14.7	28.2±13.2	1.45±0.8
	inactive	39.7±12.1	33.1±12.5	1.20±0.7
CD	active	42.8±16.2	27.1±11.4	1.58±0.9
	inactive	39.3±15.2	25.3±14.3	1.55±0.8
Control	40.0±15.5	30.5±13.5	1.31±0.8	

末梢血リンパ球数に対する OKT 4 リンパ球数および OKT 8 リンパ球数の比率を示す。T4/T8 は OKT 8 リンパ球数に対する OKT 4 リンパ球数の比率を示す。

した。また最近 Suzuki ら<sup>13)</sup>は IBD 患者の末梢血単球の IL-1 $\beta$  産生能が有意に増加していることを報告した。今回の研究では活動期の UC および CD 患者の末梢血で単球の比率が有意に増加しており、おそらく IL-1 $\beta$  産生能の増加は異常に活性化された単球に由来するものと考えられたが、その活性化の機序に関しては不明である。

IL-1 は広汎な生物活性を有している。CRP あるいはプロスタグランジン等の産生を促進し、T cell, B cell, あるいは好中球等を活性化することが知られている。さらに IL-1 はコラーゲン合成、フィブロネクチン合成等を刺激することにより組織の修復を促すと言われている<sup>1)</sup>。今回の研究の結果、MNL の IL-1 $\beta$  産生能がUCAI および CDAI と有意な相関を示したことから、Satsangi ら<sup>12)</sup>が述べているように、IL-1 $\beta$  産生能の増加が IBD の病態において重要な役割を演じている可能性が強く示唆されると同時に、MNL の IL-1 $\beta$  産生能が UC および CD の活動性の指標に成り得るという新たな可能性が示唆された。

一方 IL-1 $\beta$  産生能は UC および CD 患者の非活動期では正常化していた。その理由としては、非活動期には末梢血単球が減少していたことから、IL-1 $\beta$  を産生する単球数の減少がその一因と考えられた。別の機序としては、非活動期においてはステロイドホルモンが投与されており、ステロイドホルモンは IL-1 $\beta$  産生を抑制することから<sup>14)</sup>、IL-1 $\beta$  産生能はステロイドホルモンの投与により抑制された可能性も考えられた。

IL-2 産生能は活動期の UC 患者で増加し、非活動期では健常者と同じであった。IL-2 産生は IL-1 $\beta$  の存在に依存しているといわれているが<sup>7)</sup>、今回の研究でも活動期の UC 患者では IL-2 産生能と IL-1 $\beta$  産生能はともに増加していた。さらに活動期の UC 患者におい

て IL-2 産生能とUCAI が有意な相関を示したことから、IL-2 産生能も UC の病勢の指標となり得る可能性が新たに考えられた。

一方活動期の CD 患者においては、IL-1 $\beta$  の産生能が増加していたにもかかわらず IL-2 産生能の増加は認められなかった。Ming ら<sup>8)</sup>は UC および CD 患者において MNL の IL-2 産生能が健常者と同じであったと報告しているが、彼らは非活動期の患者で検討しており、今回の研究とは対象が異なる。今回、UC および CD 患者の末梢血の T リンパ球サブセットに有意な相違を認めなかったことより、活動期の CD 患者において IL-2 産生が増加しなかった原因として、OKT 4 あるいは OKT 8 陽性リンパ球数の差による可能性は考えづらい。最近、Muller らは活動期の CD 患者の MNL の培養上清中に IL-2 receptor (IL-2R) が増加していることを報告している<sup>15,16)</sup>。このことから活動期の CD 患者の IL-2 産生能に増加が認められなかった原因として、増加した IL-2R と free IL-2 が結合し RIA に干渉した結果、正確な IL-2 産生能が検出できなかった可能性も考えられた。また IBD においては MNL の大腸粘膜への移行も報告されており<sup>17)</sup>、末梢血中の IL-2 産生異常を有するリンパ球が大腸粘膜に移動した結果、MNL の IL-2 産生能が異常を示さなかった可能性も考えられる。

MNL の  $\gamma$ -IFN 産生能は UC および CD 患者において健常者と比べ変化を認めなかったが、Bass ら<sup>6)</sup>も同様の結果を報告している。 $\gamma$ -IFN 産生能は IL-2 により刺激されると報告されているが<sup>8)</sup>、今回の研究で活動期の UC 患者においては、IL-2 産生能が増加していたにもかかわらず  $\gamma$ -IFN 産生能には増加が認められなかった。この結果は Auer や James ら<sup>18,19)</sup>が述べているように、UC 患者においてはサイトカインカスケードの機能異常が存在し、その結果  $\gamma$ -IFN の産生が増加しなかった可能性も推察される。一方 Mutchnick ら<sup>4)</sup>は CD および UC 患者において MNL の  $\gamma$ -IFN 産生が低下していたと報告している。さらに Miura と Hiwatashi<sup>5)</sup>も CD 患者で MNL の  $\gamma$ -IFN 産生の低下を報告している。本研究において、CD および UC 患者の末梢血 T リンパ球サブセットおよび OKT 4/OKT 8 比に有意な差を認めなかったことより、今回の研究結果と上述の諸家の報告との相違が  $\gamma$ -IFN 産生リンパ球数の相違によるものとは考えづらい。今回の研究においては、刺激剤として conA を用い24時間培養を行った。しかし Mutchnick ら<sup>4)</sup>は刺激剤として phytohemagglutinin を使い48時間培養し、Miura と Hiwatashi<sup>5)</sup>は

lipopolysaccharide を用いて48時間培養した。従ってこれらの培養条件の違いも今回の研究結果と彼らの研究結果の相違の一因とも考えられる。

今回の研究結果より、IBD においては末梢血のサイトカイン産生能に異常があり、また UC と CD ではサイトカインの産生能に相違があることが明らかとなった。大腸粘膜のリンパ球構成は末梢血のリンパ球構成とは異なっており、末梢血のサイトカイン産生能異常が大腸粘膜におけるリンパ球の機能異常を必ずしも反映しているかどうかは明らかではない。今後 IBD 患者の MNL におけるサイトカイン産生能異常が大腸粘膜の単核球のサイトカイン産生能異常といかなる関わりを有するかについて更に研究を進める必要があるものと思われる。

稿を終えるにあたり、本研究遂行の御指導を賜りました恩師、千葉大学医学部第二内科学教室吉田尚教授に深甚の謝意を表します。また直接御指導、御援助を賜りました、千葉大学医学部第二内科学笠貫順二博士、千葉大学医学部第二内科学田村泰博士、千葉大学医学部第二内科学齊藤博幸博士、さらに多大な御援助を頂きました千葉大学医学部第二内科学消化器研究室の諸先生方に深く感謝致します。

なお本論文は学位審査論文である。

### SUMMARY

The production of cytokines in peripheral blood mononuclear leukocytes (MNL) of patients with inflammatory bowel disease (IBD) was investigated. T-cell subset analysis and differential white blood cell counts were also performed. Thirty-five patients with ulcerative colitis (UC), fourteen with Crohn's disease (CD) and fifteen age-matched healthy volunteers (C) were studied. No differences were observed in T-cell subsets and OKT 4/OKT 8 ratios in patients with UC or CD as compared with C. Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) production was significantly increased in the active stages of UC and CD as compared with C, but returned to control level in the inactive stages. In addition, in the active stages of UC and CD, there were significant correlations between the IL-1 $\beta$  production and UCAI (ulcerative colitis activity index) or CDAI (Crohn's disease activity index). Interleukin 2 (IL-2) production was also significantly increased in the active stage of UC and significantly correlated to UCAI, but there was no change in CD patients, as compared with C. Gamma-interferon ( $\gamma$ -IFN) production was the same as that of C. The present study

raises the possibility that the production of IL-1 $\beta$  and IL-2 in peripheral MNL of active IBD patients are indicators of disease states of UC and/or CD, and also suggests that although there is some form of dysfunction in inducing cytokines, a difference in the immune response exists between UC and CD.

### 文 献

- 1) Mahida YR, Wu K and Jewell DP: Enhanced production of interleukin-1 $\beta$  by mononuclear cells isolated from mucosa with active ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut* 30: 835-838, 1989.
- 2) Fiocchi C, Hilfiker ML, Youngman KR, Doerder NC and Finke JH: Interleukin 2 activity of human intestinal mucosa mononuclear cells. Decreased levels in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 86: 734-742, 1984.
- 3) Ming RH, Atluru D, Spellman CW, Imir T, Goodwin JS and Strickland RG: Peripheral blood mononuclear cell interleukin-2 production, receptor generation and lymphokine-activated cytotoxicity in inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol* 7: 59-63, 1987.
- 4) Mutchnick MG, Lee HH, Hollander DI, Haynes GD and Chua DC: Defective in vitro gamma interferon production and elevated serum immunoreactive thymosin B 4 levels in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Immunol Immunopharm* 47: 84-92, 1988.
- 5) Miura M and Hiwatashi N: Cytokine production in inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol* 7: 59-63, 1987.
- 6) Bass D, Levin S, Hahn T, Matot E, Katzat I, Becker S, Wallach D, Stalnikowicz R and Rachmilewitz D: The interferon (IFN) system and NK activity in ulcerative colitis (UC) and crohn's disease (CD). (abstract) *Gastroenterology* 84: 1099c, 1983.
- 7) Dinarello CA: Interleukin 1. *Rev Inf Dis* 6: 51-95, 1984.
- 8) Kasahara T, Hooks JJ, Dougherty SF and Oppenheim JJ: Interleukin 2-mediated immune interferon (IFN- $\gamma$ ) production by human T cells and T cell subsets. *J Immunol* 130: 1784-1788, 1983.
- 9) Arenza-Seisdedos F, Virelizier JL and Fiers W: Interferon as macrophages activating factors. II. Preferential effects of interferon- $\gamma$  on the interleukin 1 secretory potential of fresh aged human monocytes. *J Immunol*

- 134 : 2444-2448, 1985.
- 10) Yosikawa N, Kasanuki J, Imaizumi T, Koseki H, Kaneko R, Suzuki Y, Tokumasa Y, Miyahira M and Yoshida S: Ulcerative colitis activity index (UCAI). 12th International Congress of Gastroenterology, Lisbon, Portugal 1984.
  - 11) Best WB, Beckett JM, Singleton JW and Kern F: Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's disease Study. *Gastroenterology* **70** : 439-444, 1976.
  - 12) Satsangi J, Wolstencroft RA, Cason J, Ainley CC, Dumonde DC and Thompson RPH: Interleukin 1 in Crohn's disease. *Clin Exp Immunol* **67** : 594-605, 1987.
  - 13) Suzuki Y, Tobin A, Quinn D, Whelan A and O'Morain CA: XIII International Congress of Gastroenterology, Rome, Italy 1988.
  - 14) Snyder DS and Unanue ER: Corticosteroids inhibit murine macrophage Ia expression and interleukin 1 production. *J Immunol* **129** : 1803-1805, 1982.
  - 15) Mueller CH, Knoflach P and Zielinski CC: T-cell activation in Crohn's disease. Increased levels of soluble interleukin-2 receptor in serum and in supernatants of stimulated peripheral blood mononuclear cells. *Gastroenterology* **98** : 639-646, 1990.
  - 16) Crabtree JE, Juby LD, Lobo AJ, Bullimore DW and Axon ATR: Soluble interleukin-2 receptor in Crohn's disease: relation of serum concentrations to disease activity. *Gut* **31** : 1033-1036, 1990.
  - 17) Bonnard R, Yasaka K and Jacobson D: Ligand-activated T cell growth factor-induced proliferation: absorption of T cell growth factor by activated T cells. *J Immunol* **123** : 2704-2708, 1979.
  - 18) Auer IO, Roder A and Frohlich J: Immunostatus in Crohn's disease. VI. Immunoregulation evaluated by multiple, distinct T-suppressor cell assays of lymphocyte proliferation, and by enumeration of immunoregulatory T-lymphocyte subsets. *Gastroenterology* **86** : 1531-1543, 1984.
  - 19) James SP, Neckers LM, Graeff AS, Cossman J, Balch CM and Strober W: Suppression of immunoglobulin synthesis by lymphocyte subpopulations in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* **86** : 1510-1581, 1984.
-