

ЦИТОКИНЫ В СЫВОРОТКЕ ЛЮДЕЙ, ПОДВЕРГШИХСЯ ДЕЙСТВИЮ ФАКТОРОВ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АВАРИИ

*А.А.Ярилин, И.М.Беляков, С.А.Кетлинский,
А.С.Симбирцев, Н.М.Надежина, Н.В.Короткова,
Л.В.Карканица, М.Е.Комаровская*

*/Институт иммунологии МЗ РФ, Москва; ВНИИ особо чистых
биопрепаратов, Санкт-Петербург; больница №6 МЗ РФ, Москва;
НИИ ГПК МЗ РБ, Минск/*

Ключевые слова: облучение, цитокины, сывороточный ИЛ-1 β ,
ФНО- α , субпопуляции Т-клеток

Иммунологический мониторинг лиц, пострадавших на ЧАЭС [1-4, 6, 7] указывает на значительные нарушения в системе иммунитета как у ликвидаторов Чернобыльской аварии, так и у больных с последствиями острой лучевой болезни (ОЛБ). Отдаленные эффекты действия радиации, в том числе и малых доз γ -облучения, связаны в первую очередь с угнетением процессов дифференцировки Т-клеток. В наибольшей степени это угнетение проявляется в отношении CD4 $^{+}$ лимфоцитов, служащих основным источником лимфокинов. Следствием радиационного воздействия является также поражение стромальных элементов иммунной системы и изменение (иногда повышение) активности вспомогательных клеток, включая макрофаги. В отдаленные сроки после облучения поражение эпителиальных клеток стромы тимуса проявляется в снижении уровня α -тимозина в сыворотке крови [6, 7]. Аналогичных свидетельств поздней реакции на облучение макрофагов и соединительно-тканых стромальных клеток лимфоидных органов не получено. В связи с этим представлялось интересным оценить содержание в сыворотке крови лиц, подвергшихся действию факторов Чернобыльской аварии, ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α -цитокинов, продуцируемых макрофагами и клетками стромы и обладающих чрезвычайно широким спектром действия, включающим и влияние на Т-лимфоциты, процессы их активации и деления. Эти цитокины играют важную роль в развитии воспалительной реакции, в процессах пролиферации и дифференцировки клеток иммунной системы, в противоопухолевой резистентности, в межклеточных взаимодействиях и т.д. [8-14]. Изменение их уровня могло бы служить суммарным отражением не только действия на моноциты/макрофаги облучения как такового, но и

их вовлечения в компенсаторные процессы или реакции на сопутствующие заболевания, осложняющие пострadiaционный период.

В данной работе сывороточные концентрации ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α определялись у лиц, подвергшихся воздействию факторов Чернобыльской аварии разной интенсивности, полученные показатели сопоставлялись с результатами оценки численности лимфоцитов, относящихся к различным субпопуляциям.

Материал и методы

Обследовано 36 человек в возрасте от 25 до 68 лет через 5 лет после воздействия факторов аварии на ЧАЭС. Все обследованные лица были разделены на 3 группы: I — ликвидаторы (13 человек, участвовавшие в ликвидации последствий аварии в 1986 году, без проявлений ОЛБ); II — лица, перенесшие ОЛБ (17 человек), разделенные на подгруппы: IIa — ОЛБ I-II ст. (11 человек) и IIб — ОЛБ III-IV ст. (6 человек); III — больные с местными лучевыми ожогами (6 человек). Суммарная доза внешнего облучения у ликвидаторов в период работы в очаге аварии составила 0,1-0,5 Гр, у лиц, перенесших ОЛБ I-II ст., — до 4,0 Гр; III-IV ст. — до 9,0 Гр. Последствия ОЛБ выражались в развитии катаракт, местных изменений кожи, повторных респираторных инфекций и т.д. Более половины ликвидаторов и больных с последствиями ОЛБ во всех группах имели сопутствующие хронические воспалительные заболевания (тонзиллит, ринит, холецистит, гепатит, простатит, пиелонефрит).

Иммунологическое исследование включало определение содержания лейкоцитов, лимфоцитов, Т-лимфоцитов (клеток, несущих маркеры CD3, CD2, CD5) и их принадлежность к основным субпопуляциям (CD4, CD8). Для определения CD3+, CD2+, CD5+, CD4+, CD8+ клеток использовали соответственно моноклональные антитела (МАТ) ИКО 90 (предоставлены А.Ю.Барышниковым, ОНЦ АМН РФ), ЛТ2, ЛТ1, ЛТ4 и ЛТ8 (предоставлены А.В.Филатовым, Институт иммунологии МЗ РФ). Число В-лимфоцитов исследовали с помощью МАТ 3F3. Определение клеточных маркеров осуществлялось на проточном цитофлюориметре EPICS в реакции непрямой иммунофлюоресценции. Уровень сывороточного α_1 -тимозина оценивали с помощью радиоиммунного метода.

Концентрацию ИЛ-1 β определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Для сорбции использовали кроличьи поликлональные антитела к ИЛ-1, введенные в 0,01 М Na₂CO₃/NaHCO₃ буфере, pH 9,6 до конечной концентрации 1,2 мкг/мл. В каждую лунку планшета вносили по 50 мкл антител, сорбция осуществлялась путем инкубации планшета в течение 1,5 часа со встряхиванием при комнатной температуре. Несорбированные антитела удаляли из лунок трехкратным промыванием. В лунки вносили по 100 мкл блокирующего раствора (0,15 М NaCl, 0,01 М Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, pH 7,4, 1% желатина или 2% бычьего сывороточного альбумина) и планшет инкубировали 1 час со встряхиванием при комнатной температуре. Исследуемые образцы в разведении

вносили в лунки в объеме 50 мкл (при построении калибровочной кривой использовали разведения рекомбинантного ИЛ-1 человека). Инкубировали сыворотки в течение 4 часов при комнатной температуре при непрерывном встряхивании. В каждую лунку вносили по 50 мкл раствора мышинных моноклональных антител к ИЛ-1 человека, меченных биотином. Планшет инкубировали в течение 1 часа, встряхивая, при комнатной температуре, после чего осуществляли трехкратную отмывку лунок планшета. В последующем в лунки вносили козы антимышинные антитела, меченные пероксидазой хрена. После инкубации в каждую лунку вносили 50 мкл окрашивающего раствора (1 мг/мл ортофенилендиамина в 0,1 М $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ с 2% лимонной кислоты, pH 5,0 и на 10 мл готового раствора добавляется 10 мкл 30% раствора H_2O_2). Реакцию проводили 10-15 минут в темноте при 37°C, после чего добавляли 50 мкл 2М раствора H_2SO_4 . Результаты учитывали спектрофотометрически при длине волны 492 нм. Порог чувствительности тест-системы — 20 пкг/мл.

Активность ИЛ-6 определяли колориметрическим методом (MTT) в пролиферативном тесте с использованием ИЛ-6 зависимой клеточной линии В9 и контрольного образца рекомбинантного ИЛ-6 человека. Клетки указанной линии культивировали в присутствии разведений сывороток в лунках 96-луночной платы "Nunc" — 5 тыс. клеток на лунку в среде IMDM ("Gibco") с добавлением 10% ЭТС и смеси антибиотиков. Через 72 часа культивирования (37°C, 5% CO_2) в лунки добавляли MTT ("Serva"), еще через 4 часа — 10% раствор диодецилсульфата натрия на ночь. Результаты учитывали спектрофотометрически при длине волны 540 нм на мультискане "Organon Teknika". Биологическую активность рассчитывали с помощью компьютера IBM (1 Ед/мл активности ИЛ-6 соответствовала приблизительно 1 пкг/мл его концентрации в исследуемом образце).

ФНО- α определяли иммуоферментным методом. Моноклональные мышинные антитела (МАТ) клона Т1С5 разводили в концентрации 10 мкг/мл бикарбонатным буфером. МАТ вносили в лунки пластиковых планшетов в объеме 50 мкл и инкубировали в течение 18 часов при 4°C.

Планшеты отмывали трижды фосфатно-солевым буфером pH 7,2, содержащим 0,05% детергента NP-40. В лунки планшетов вносили исследуемый материал по 50 мкл. Планшеты инкубировали в течение 1,5 часа при температуре 18-20°C, проводили двукратную отмывку буфером. Кроличьи антитела, разведенные до концентрации 10 мкг/мл буфером PBS-NP, содержащим 0,05% детергента Murg, вносили в лунки планшетов по 50 мкл, инкубировали в течение часа при температуре 18-20°C при постоянном встряхивании, дважды отмывали буфером. Третьи антитела, меченные пероксидазой хрена, растворяли в 40 мл PBS-NP и вносили в лунки планшет по 50 мкл, инкубировали 1 час при непрерывном встряхивании, затем дважды отмывали PBS-NP и дважды — дистиллированной водой. Специфическую ферментативную активность определяли по изменению окраски субстрата. Для этого 5 мл ортофенилендиамина

растворяли в 10 мл фосфатно-цитратного буфера $\text{pH}=5.0$, добавляли 5 мкл свежей 30%-й перекиси водорода. Раствор вносили в лунки плат в объеме 50 мкл. Реакцию останавливали внесением в лунки 50 мкл нормальной серной кислоты. Результат реакции оценивали спектрофотометрически при длине волны 490 нм. Порог чувствительности тест-системы — 50 пкг/мл.

Обработку полученных результатов проводили методом вариационной статистики с помощью пакета прикладных программ STATGRAF.

Результаты и обсуждение

Исследование сывороток крови 30 здоровых доноров показало, что концентрация ФНО- α в них была ниже чувствительности тест-системы (<50 пкг/мл). Только у 3 из 17 больных с последствиями ОЛБ и у 1 из 13 ликвидаторов (всего в 11% случаев) отмечен повышенный уровень сывороточного ФНО от 240 до 6600 пкг/мл. У этих пациентов выявлено достоверное снижение числа CD5+, CD4+, CD8+-клеток и В-лимфоцитов по сравнению с донорами.

Результаты анализов свидетельствуют о том, что у ликвидаторов и больных с последствиями ОЛБ концентрация сывороточного ИЛ-6 не превышала аналогичные показатели в донорской группе (в сыворотке крови здоровых людей ИЛ-6 не выявлялся, при чувствительности тест-системы 1 пкг/мл).

Наши исследования ИЛ-1 β в сыворотке крови у 24 здоровых доноров показали, что у 16 из них концентрация ИЛ-1 β была ниже чувствительности тест-системы (менее 20 пкг/мл), а у 8 (33%) — составила от 100 до 600 пкг/мл. В среднем уровень ИЛ-1 β в этой группе составил $90,0 \pm 23,6$ пкг/мл. При изучении содержания сывороточного ИЛ-1 β в общей популяции обследованных больных с последствиями ОЛБ и ликвидаторов выявлено значительное повышение ($p < 0,05$) его уровня в среднем до 2351 ± 1046 пкг/мл (рис.1).

Концентрации сывороточного ИЛ-1 β , превышающие уровень нормы, зафиксированы в этой группе в 56% случаев. Сопоставление уровня сывороточного ИЛ-1 β в группах больных с последствиями ОЛБ и ликвидаторов продемонстрировало более высокие показатели ($p > 0,05$) концентрации сывороточного ИЛ-1 β у ликвидаторов (3649 ± 2352 пкг/мл) по сравнению с аналогичным показателем у пациентов с последствиями ОЛБ (1356 ± 432 пкг/мл). Однако доля положительных результатов в группе ликвидаторов не превышала аналогичный показатель у больных с последствиями ОЛБ. Так у 7 из 13 ликвидаторов (54% случаев) и у 9 из 17 пациентов с последствиями ОЛБ (53% случаев) содержание сывороточного ИЛ-1 β превышало порог чувствительности тест-системы. У больных с местными лучевыми ожогами средний уровень сывороточного ИЛ-1 β также превышал ($p > 0,05$) показатели донорского контроля и составлял 1169 ± 999 пкг/мл (рис.1).

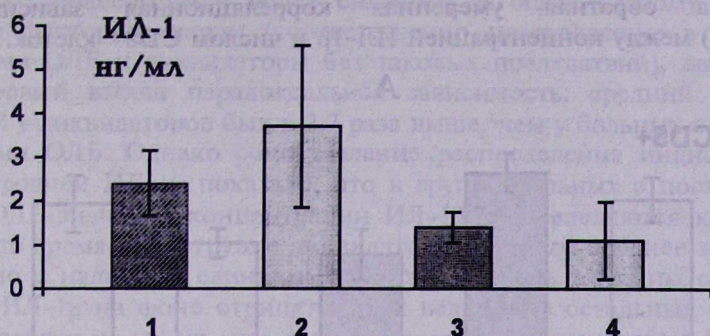


Рис.1. Содержание сывороточного ИЛ-1 β у ликвидаторов Чернобыльской аварии, больных с последствиями ОЛБ и у пациентов с местными лучевыми ожогами. По оси абсцисс: 1 — все обследованные пациенты, 2 — ликвидаторы, 3 — больные с последствиями острой лучевой болезни, 4 — пациенты с местными лучевыми ожогами. По оси ординат: уровень сывороточного ИЛ-1 β (нг/мл)

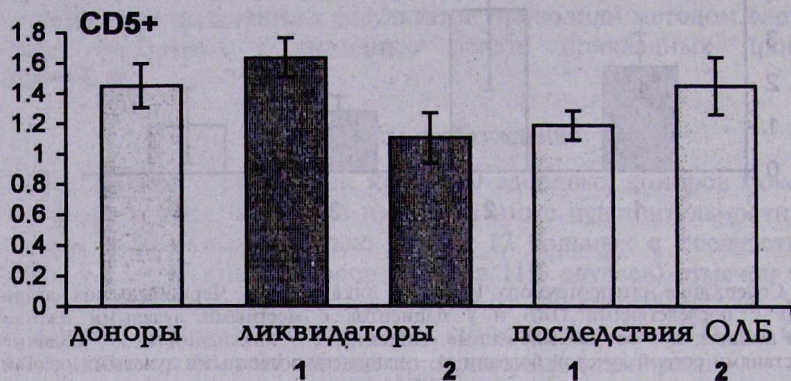
У ликвидаторов без выраженной сопутствующей патологии содержание сывороточного ИЛ-1 β было ниже (536 ± 395 пкг/мл, $p > 0,05$) по сравнению с аналогичным показателем в группе с наличием сопутствующей патологии (5895 ± 3680 пкг/мл). По полученным нами результатам отсутствуют существенные отличия между показателями уровня сывороточного ИЛ-1 β в зависимости от тяжести перенесенной ОЛБ (I-II ст. — 1480 ± 589 пкг/мл, III-IV ст. — 1120 ± 636 пкг/мл).

Выявлена определенная взаимосвязь изменений уровня ИЛ-1 β и численности Т-клеток некоторых типов. Так, у ликвидаторов с концентрацией сывороточного ИЛ-1 β менее 20 пкг/мл абсолютное содержание Т-лимфоцитов (CD5+) и Т-хелперов (CD4+) было в пределах нормы (рис.2). Вместе с тем у ликвидаторов с уровнем сывороточного ИЛ-1 β выше 20 пкг/мл число CD5+ и CD4+ клеток было достоверно ниже по сравнению с аналогичным показателем у лиц с низким содержанием ИЛ-1 β , а также при сравнении с донорским контролем (рис.2).

У ликвидаторов с высоким содержанием ИЛ-1 β выявлена умеренная корреляционная связь ($r = 0,51$, $p < 0,05$) между изменением показателей CD5+ и уровнем ИЛ-1 β и тесная корреляционная зависимость ($r = 0,80$, $p < 0,05$) между содержанием CD8+ клеток периферической крови и концентрацией ИЛ-1 β . Отмечена обратная тесная ($r = -0,83$) корреляционная зависимость между показателями ИЛ-1 β и числом CD8+ лимфоцитов у ликвидаторов без сопутствующей патологии. В общей популяции ликвидаторов выявлена умеренная корреляционная зависимость ($r = 0,68$, $p < 0,05$) между числом В-клеток и концентрацией ИЛ-1 β . У больных с последствиями ОЛБ, в группах с высоким и низким содержанием ИЛ-1 β , отсутствовали до-

стоверные отличия по числу Т-клеток и Т-хелперов. Вместе с тем у пациентов с последствиями ОЛБ с высокими показателями ИЛ-1 β отмечена обратная умеренная корреляционная зависимость ($r=-0,56$) между концентрацией ИЛ-1 β и числом CD8+ клеток.

А



Б



Рис.2. (А,Б). Количество CD5+ и CD4+ лимфоцитов у пациентов с различным содержанием сывороточного ИЛ-1 β . По оси абсцисс: 1 – содержание сывороточного ИЛ-1 β < 20 пкг/мл, 2 – содержание сывороточного ИЛ-1 β > 20 пкг/мл. По оси ординат: абсолютное количество CD5+, CD4+ лимфоцитов (10^9). А – CD5+ лимфоциты; Б – CD4+ лимфоциты

Таким образом, в отдаленные сроки после воздействия факторов радиационной катастрофы отмечается закономерное увеличение числа случаев с повышенным уровнем сывороточного ИЛ-1 β . В отношении сывороточного ФНО- α отмечена лишь тенденция к развитию подобных изменений.

При сопоставлении средних значений концентрации ИЛ-1 β в группах, подвергшихся более сильному и более слабому воздействию факторов аварии (соответственно пострадавшие с последствиями ОЛБ и ликвидаторы без таковых последствий), выявилась на первый взгляд парадоксальная зависимость: средний уровень ИЛ-1 β у ликвидаторов был в 2.7 раза выше, чем у больных с последствиями ОЛБ. Однако сопоставление распределения индивидуальных уровней ИЛ-1 β показало, что в группе больных с последствиями ОЛБ значения концентрации ИЛ-1 β распределяются компактно, в то время как в группе ликвидаторов высокое среднее значение связано с наличием единичных случаев с очень высоким содержанием ИЛ-1 β на фоне отрицательных величин в остальных случаях. Это наводит на мысль, что высокая средняя концентрация ИЛ-1 β у ликвидаторов обусловлена не столько исходным воздействием как таковым, сколько особенностями последующего развития процессов, запущенных этим воздействием. И действительно, оказалось, что все случаи значительного повышения концентрации ИЛ-1 β оказались связаны с подгруппой лиц с осложнениями в виде хронических воспалительных процессов. Таким образом, наиболее вероятной причиной повышения уровня сывороточного ИЛ-1 β у ликвидаторов является развитие воспаления. Подобная зависимость отсутствует в группе лиц с последствиями ОЛБ, у которых осложнения носят в большей степени характер дегенеративных или атрофических процессов. Возможно, в этом случае повышение продукции ИЛ-1 β имеет компенсаторный характер и направлено на усиление подавленной активности лимфоидных клеток. О механизмах усиления выработки ИЛ-1 β у этих больных даже в предположительной форме говорить преждевременно.

Анализ взаимосвязей уровня ИЛ-1 β с содержанием в крови различных типов лимфоцитов у больных с последствиями ОЛБ не выявил существенных закономерностей. В группе ликвидаторов подобные взаимосвязи обнаружены. Так, у лиц с повышенным уровнем ИЛ-1 β снижено содержание CD5+ и CD8+ клеток, тогда как при нормальном уровне ИЛ-1 β эти показатели не отличаются от контроля. Поскольку показана связь повышения концентрации ИЛ-1 β у ликвидаторов с сопутствующими осложнениями, естественно связать снижение численности Т-лимфоцитов, в частности Т-хелперов, с этой патологией, а не с действием факторов аварии как таковых. О возможности прямых взаимодействий уровней ИЛ-1 β и Т-клеток в литературе не сказано. Нельзя исключить, что присоединяющиеся осложнения в виде хронических воспалительных процессов могут способствовать формированию Т-иммунодефицита через действие на функцию тимуса, в частности, эпителиальных элементов его стромы. Об этом свидетельствовало бы снижение уровня α_1 -тимозина в подгруппе ликвидаторов с осложнениями. Отсутствие взаимосвязи между уровнем сывороточного ИЛ-1 β и количеством Т-клеток (как, впрочем, отсутствие корреляционной зависимости между числом CD5+ и CD4+ лимфоцитов и концентрацией сывороточного

α_1 -тимозина) у больных с последствиями ОЛБ свидетельствует, на наш взгляд, о глубокой дискоординации регуляторных процессов у этих пациентов. Возможно, что эта дискоординация вторична и связана с угнетением продукции тимических гормонов эпителиальными клетками, поскольку лечение больных с последствиями ОЛБ с помощью тимических гормонов способствует восстановлению не только числа Т-клеток, но и концентрации ИЛ-1 β . Приведем конкретный пример.

Больной Т., 30 лет, перенес в 1986 г. ОЛБ IV степени, лучевые ожоги, доза внешнего γ -облучения 9 Гр (по костномозговому синдрому). Иммунограмма больного при поступлении в клинику: лейкоциты $6,0 \times 10^9$, н/я — 5%, с/я — 49%, лимфоциты — 29%, моноциты — 17%, CD5+ — 45% (0.78), CD4+ — 29% (0.50), CD8+ — 21% (0.37), ИРИ=1.38, В-лимф. — 10% (0.17), фагоцитоз — 96%, IgA — 145 мг%, IgM — 120 мг%, IgG — 980 мг%, содержание сывороточного ИЛ-1 β — 1577 пкг/мл, сывороточная тимическая активность составила 2 единицы. Больному проведен курс тактивина, после чего показатели иммунограммы были следующими: лейкоциты — $8,2 \times 10^9$, н/я — 6%, с/я — 47%, эоз. — 4%, лимфоциты — 36%, моноциты — 7%, CD5+ — 66% (1.98), CD4+ — 36% (1.08), CD8+ — (0.69), ИРИ=1.57, В-лимф. — 5% (0.15), IgA — 195 мг%, IgM — 170 мг%, IgG — 1100 мг%, содержание сывороточного ИЛ-1 β — 10 пкг/мл, сывороточная тимическая активность составила 3 единицы.

Наблюдения, представленные в данной работе, должны акцентировать внимание исследователей, занятых проблемами радиационной иммунологии, на роли цитокинов в динамике пострадикационных иммунологических процессов. Дальнейший анализ, включающий изучение синтеза ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α , моноцитами/макрофагами, а также эпителиальными клетками тимуса, позволит детальнее оценить продукцию этих цитокинов и изучить ее связь с особенностями пострадикационных изменений в иммунной системе.

Поступила 12.03.95

ՉԵՐՆՈՐԻԼԻ ՎԹԱՐԻ ԳՈՐԾՈՆՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆԸ ԵՆԹԱՐԿՎԱԾ ԱՆՉԱՆՑ ՇԻՃՈՒԿՈՒՄ ՑԻՏՈԿԻՆՆԵՐԻ ԱՌԿԱՅՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա.Ա. Յարիկյն, Ի.Մ. Բելյակով, Ա.Ա. Կերիկյանի, Ա.Ա. Սիմիրյոցի, Ն.Մ. Նադեժդինա, Ն.Վ. Կորոպկովա, Լ.Վ. Կարկանիցա, Մ.Ե. Կոմարովսկայա

Հետազոտվել է Չերնոբիլի վթարի հետևանքները վերացնող անձանց եւ սուր ճառագայթային հիվանդության հետևանքներով տառապող հիվանդների շիճուկային ինտերլեյկինների (ԻԼ)-1 β , ինչպես նաև ուռուցքների մեռուկի գործոնի առկայությունը: Հայտնաբերվել է, որ վթարից 5 տարի անց նկատվում է շիճուկային ԻԼ-1 β խտության բարձրացում, ըստ որում, աղետի հետևանքները վերացնողների շրջանում այն ավելի բարձր էր գուցողող ախտաբանության առկայության դեպքում: Բացահայտված է, որ Т рѣիզների բանակի, տուսնդին ենթապոպուլյացիաների եւ շիճուկային ԻԼ-1 β խտության միջեւ գոյություն ունի փոխադարձ կապ:

CYTOKINES IN THE SERUM OF PERSONS SUBJECTED TO THE INFLUENCE OF THE CHERNOBYL ACCIDENT AGENTS

*A.A.Yarilin, I.M.Belyakov, S.A.Ketlinski, A.S.Simbirtsev,
N.M.Nadezhina, N.V.Korotkova, L.V.Karkanitsa, M.Ye.Komarovskaya*

The content of serum interleukins (IL)- 1β as well as the tumor necrosis agent (TNA)- α were investigated in liquidators of the Chernobyl accident and patients with consequences of acute radiation sickness (ARS).

It was found that 5 years after the accident an increase of the serum IL- 1β concentration was observed in these persons. The level of the serum IL- 1β was higher in persons with accompanying diseases. In liquidators serum dependence of the quantity of T-cells, definite subpopulations on the concentration of serum IL- 1β was revealed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляков И.М., Ярилин А.А., Надежина Н.М. и др. Радиобиол., 1992, 3, с.15.
2. Беляков И.М., Ярилин А.А., Кузьменок О.И. и др. Радиобиол., 1992, 3, с.19.
3. Беляков И.М., Ярилин А.А. Радиобиологические последствия аварии на Чернобыльской АЭС. Минск, 1991.
4. Петров Р.В., Орадовская И.В., Пинегин Б.В. Мед.радиол., 1991, 1, с.39.
5. Петров Р.В., Орадовская И.В. Докл. I Межд. конф. Биологические аспекты последствий аварии на Чернобыльской атомной станции. Чернобыль, 2, с.294.
6. Беляков И.М., Ярилин А.А., Аришинов В.Ю. Иммунол., 1992, 2, с. 20.
7. Ярилин А.А. Иммунол., 1988, 5, с.5.
8. Houssian F.A., Coulie P.G., Glive D., Van Snick J. Eur.J.Immunol., 1988, 18, 653.
9. Movat H.Z. J.Lab.Clin.Med., 1987, 110, 668.
10. Neta R., Oppenheim J.J. Blood., 1988, 72, 1093.
11. Neta R., Oppenheim J.J., Douches S.D. J. Immunol., 1988, 140, 108.
12. Oppenheim J.J., Kovacs E.R., Mutsuchima K., Durum S.K. Immunol.Today, 1986, 7, 45.
13. Oppenheim J.J., Mutsuchima K., Goshimura T. et al. Agents and Actions., 1989, 26, 134.
14. Pfizenmaier K., Kronke M., Scheurich P., Nagel G.A. Blut., 1987, 55, 1.