Pemirolast potassium および hydrocortisone の ヒト好酸球遊走に対する抑制効果

松 井 秀 樹*

Inhibition of human eosinophil chemotaxis by pemirolast potassium and hydrocortisone

The inhibitory effects of pemirolast potassium (TBX) and hydrocortisone on platelet activating factor (PAF)-induced human eosinophil chemotaxis were examined by a modified Boyden technique. The migration of eosinophils to lower wells was assessed by counting the number of cells and/or measuring total amounts of eosinophil cationic protein (ECP). Human eosinophils were purified from nine atopic patients. TBX significantly inhibited PAF-induced eosinophil chemotaxis in a dose-dependent manner at concentrations from 1×10^{-6} to 1×10^{-4} M. PAF-induced eosinophil chemotaxis was also inhibited by hydrocortisone in a dose-dependent fashion at concentrations from 1×10^{-7} to 1×10^{-5} M. The inhibition by these agents was not due to their cytotoxic effect as evaluated by trypan blue dye exclusion and by ECP release.

These results suggested that both TBX and hydrocortisone inhibited eosinophil chemotaxis at therapeutic concentrations. TBX and hydrocortisone could effect allergic diseases via their inhibition of eosinophil chemotaxis.

Hideki Matsui*

key words : *eosinophil, chemotaxis, pemirolast potassium, hydrocortisone, eosinophil cationic protein, platelet activating factor*

現在、気管支喘息の発症機序は従来より考えられていた Coombs and Gell の I 型アレルギー反応のみならず、それに続発する一連のアレルギー性炎症がその本質であると理解されている。このアレルギー性炎症反応においては、肥満細胞、マクロファージ、リンパ球、好中球、好酸球、好塩基球、血小板などの種々の細胞が関与していることが知られているが、そのなかでも好酸球が炎症局所においてもっとも重要な細胞であると考えられている^{1,2)}。好酸球はその特異顆粒に含まれる

MBP (majorbasic protein), ECP (eosinophil cationic protein), EPO (eosinophil peroxidase), EDN (eosinophilderived neurotoxin)などを放出することにより気道上皮の傷害を起し、これが気道過敏性の亢進の一因となっていることが示唆されている^{1,2)}。

このように好酸球が局所に選択的に動員・集積されるためには、まず好酸球の血管内皮細胞への接着、つづいて内皮細胞間隙からの遊走という少なくとも二つの過程が必要である³⁾。したがって、気管支喘息の治療を考えるうえにおいても、これらの過程に作用する因子は非常に興味を持たれるが、現在実際に臨床の場で使用されている抗喘息薬にそのような作用がどの程度あるのかは十分にわかっていない。

そこで今回、気管支喘息の重要な mediator の一つであり、かつ、現時点でもっとも強力な好酸球遊走因子である血小板活性化因子 (platelet activating factor: PAF) によるヒト好酸球遊走に対する、抗アレルギー薬の pemirolast potassium (TBX) および副腎皮質ステロイドの hydrocortisone の効果につき検討した。

材料と方法

(1) 使用薬物とその調整方法

TBX 原末(東京田辺製薬より供与)は蒸留水で 10^{-1} M に、また hydrocortisone (Sigma) は ethanol で 2.8×10^{-3} M に溶解後、それぞれ 0.1 % human serum albumin (Sigma) 添加の phenol red 不含有 RPMI 1640 (Gibco) にて希釈した。PAF (PAF-C₁₆, Bachem) は ethanol で 10^{-2} M に溶解後 -20°C で保存し、使用時に RPMI 1640 にて希釈した。

(2) 好酸球分離方法

好酸球は、好酸球増多を示すアトピー性疾患の患者 9 人(気管支喘息 3 人、アレルギー性鼻炎 3

* Department of Internal Medicine and Laboratory Medicine, St. Marianna University School of Medicine 聖マリアンナ医科大学内科学・臨床検査医学教室

人, アトピー性皮膚炎 3 人) の末梢血より, 津田らの方法⁴⁾と Hansel らの方法⁵⁾に準じ改変した方法で分離した. すなわち, Nycodenz 等張液(Nyegaard)を 0.75% (W/V) NaCl, 3 mmol/l KCl, 0.3 mmol/l CaNa₂EDTA を含む 5 mmol/l Tris-HCl 緩衝液(pH 7.5)で希釈し, 7 層の非連続比重勾配(比重 1.052, 1.080, 1.084, 1.088, 1.093, 1.098, 1.102 g/ml)を形成した後, これにヘパリン加静脈血から dextran 沈降法により採取した白血球浮遊液を重層し, 1,000 g, 20 分間, 20°C で遠心した. 遠心後, 各比重ごとに分画された細胞を回収して洗浄し, さらに残存赤血球を溶解後, 再度洗浄した. これを Randolph 染色液(武藤化学薬品)および Diff-Quick 染色液(国際試薬)にて染色し, 好酸球数を算定して, 好酸球純度の高い分画を選んだ. さらに, 混在した好中球を除くため, 抗 CD 16 モノクローナル抗体(MG-38, ニチレイ)と immunomagnetic beads (Dynabeads M-450 sheep anti-mouse IgG, Dynal) による negative selection を併用し, 純度 90% 以上, 生存率 97% 以上(トリパンプルー色素排除試験による), 比重 1.088 g/ml 以上の正比重好酸球を得た. この好酸球を RPMI 1640 に細胞数 2.5~5×10⁶/ml になるように浮遊させ, 以下の実験に用いた.

(3) 薬剤による前処置

上記の方法により得られた好酸球浮遊液に, TBX(最終濃度 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴M), hydrocortisone(最終濃度 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵M)および control としての RPMI 1640 を加え, CO₂ インキュベーターで 1 時間前培養した. 前培養した好酸球浮遊液は, 洗浄することなく以後の実験に用いた.

(4) 好酸球遊走能の測定

好酸球遊走能は 12 穴 ケモタキシス チャンバー (Neuro probe)を用いた Boyden の変法にて測定した. チャンバー上室には上記のごとくの前処置を行った好酸球浮遊液 2.5~5×10⁶/ml を 100 μl, 下室には 10⁻⁶M もしくは 10⁻⁷M の PAF 溶液 150 μl を入れ, 両室を孔径 5 μm のポリカーボネイトフィルター (Nuclepore, Costar) で境して, CO₂ インキュベーターにて 37°C, 5% CO₂ の条件下で 2.5 時間培養した. 培養後, 下室の内容を回収し, 以下の二つの方法にて遊走能を評価した.

① 下室内好酸球数算定法(eosinophil counting technique)

Little らの方法⁶⁾に準じ, 下室内容を Randolph 染色して血球計算盤にて細胞数を数え, 下式により遊走率を求めた.

好酸球遊走率(%)=

$$\frac{\text{下室内好酸球数} - \text{buffer control (上下室とも PAF 溶液を含まない)の下室内好酸球数}}{\text{上室に入れた好酸球数}} \times 100$$

② ECP 測定法(ECP measuring technique)

下室内の好酸球(純度 90% 以上)を 0.1% Triton X-100 にて破壊した後, ECP RIT Kit (Pharmacia)にて ECP を測定し遊走能を評価した.

また, 薬剤による好酸球遊走の抑制率は, 下式により求めた.

好酸球遊走抑制率(%)=

$$\left[1 - \frac{\text{薬剤前処置の ECP 値} - \text{buffer control の ECP 値}}{\text{RPMI 1640 前処置の ECP 値} - \text{buffer control の ECP 値}} \right] \times 100$$

なお, 実験ならびに測定は, それぞれ duplicate で行った.

(5) 統計解析

結果は mean±SEM であらわし, 95% の信頼区間における推定において, 有意水準 5% 以下を有意差ありとした.

結 果

(1) TBX, hydrocortisone の好酸球障害性

各種薬剤にて 1 時間前処置後の, トリパンプルー色素排除試験での好酸球生存率は, control と比べ有意な差はなく, 95% 以上であった. また, 培養上清中への ECP の放出も control と比べ有意な差はなかった(成績は本稿に示されていない).

(2) ケモタキシスチャンバー下室内好酸球数算定法による遊走能の評価

下室内好酸球数算定法を用いた PAF 刺激での好酸球遊走能測定と, それに及ぼす TBX, hydrocortisone の効果を検討した代表的な 2 例の実験成績を図 1 にまとめた. まず, control としての薬剤による前処置のしていない好酸球において, 症例 1 の 10⁻⁷M の PAF による遊走では, buffer control は上室の好酸球がほとんど下室に移行しなかった. これに対し, 下室にのみ PAF

図1 Analysis of the relative contributions of chemotaxis and chemokinesis to PAF-induced eosinophil migration

The eosinophils were preincubated with RPMI 1640 (□), or with TBX (▨: 10⁻⁴M, ■: 10⁻⁶M), or with hydrocortisone (▧: 10⁻⁵M, ▩: 10⁻⁷M). Data are obtained by duplicate determinations from two representative patients. Results are expressed as the percent eosinophil migration, calculated as described in the text. For an exception, only buffer control is expressed as a ratio to total number of eosinophils, in order to clarify the back ground level(<1.1%).

のいったものでは17.6%, また上下室に PAF の濃度勾配がないものは5.6%, 逆に上室にのみ PAF のいったものでは2.3%であった。また, 10⁻⁶M の PAF を用いた同様の実験でも, buffer control ではほとんど好酸球が移行しなかったが, 下室にのみ PAF のいったものは25.1%, また上下室に PAF の濃度勾配のないものは5.6%と, 10⁻⁷M の PAF による実験結果と同じ傾向がみられた。さらに症例2においても, buffer control では好酸球の移行がほとんどみられなかったのに対し, 下室にのみ10⁻⁶M の PAF のいったものは47.0%, 上下室とも PAF のいったものは11.0

%であった。

これらの結果より, 下室にのみ PAF を入れたものは, 方向性を持たない無秩序な運動(chemokinesis)も含まれるが, 遊走因子の濃度勾配に沿った方向性のある運動(chemotaxis)を反映することが確認された。

一方これに対し, 症例1, 症例2ともに TBX 10⁻⁴M, 10⁻⁶M もしくは hydrocortisone 10⁻⁵M, 10⁻⁷M で前処置をした細胞においては, それぞれ用量依存的に好酸球の遊走が抑制される傾向を示した。

さらに, ここで下室内 ECP 測定法にても好酸

図2 関係 of percent inhibition by eosinophil counting technique to that by ECP measuring technique

球遊走能を評価し、両薬剤の好酸球遊走抑制率を求めたところ、図2に示すように下室内好酸球数算定法から得た抑制率との間には有意な相関が認められた($r=0.88$, $P<0.05$)。筆者のこれまでの経験では、下室内好酸球数算定法による遊走能の定量は安定性に問題があったので、以後の実験はECP測定法にて行った。

(3) TBX, hydrocortisone の好酸球遊走に対する効果

ECP測定法により、PAF刺激による好酸球遊走に対するTBXとhydrocortisoneの効果をみた代表的な実験例を図3に示す。症例1では、controlのECP実測値は $236.9 \mu\text{g/l}$ で、buffer controlはその15.2%であった。これに対し、TBXは 10^{-6} ~ 10^{-4}M の濃度で抑制率31.5%、36.5%、47.1%と用量依存的に好酸球遊走を抑制した。同様に、hydrocortisoneにおいても 10^{-7} ~ 10^{-5}M の濃度で、それぞれ21.3%、37.3%、41.2%と用量依存的に遊走抑制効果を示した。また、症例2ではcontrolで $442.3 \mu\text{g/l}$ のECP値に対し、buffer controlは5.3%で、これにおけるTBXでの抑制率は症例1と同様に、 10^{-6} ~ 10^{-4}M の濃度でおおの59.2%、64.6%、70.5%と用量依存的に好酸球の遊走を抑制した。一方、hydrocortisoneにおいては、低濃度より60.6%、

図3 Representative experiments of inhibitory effect of TBX (●) and hydrocortisone (■) on eosinophil chemotaxis in response to PAF (10^{-6}M)

Data are obtained by duplicate determinations. Results are expressed as the percent inhibition.

75.4%、67.8%と、 10^{-6}M をピークにして 10^{-5}M ではむしろ抑制率の低下がみられた。

さらに、図4にECP測定法で各薬剤の効果を検討した実験結果のまとめを示す。各症例のcontrolのECP実測値は $33.4\sim 7554.6 \mu\text{g/l}$ と、個々の好酸球のECP含量、上室に入れた好酸球数ならびに遊走能の差異により、かなりの違いが認められたため、効果の検討は好酸球遊走抑制率にて行った。なお、各症例のcontrol ECP値に対するbuffer controlの比率は、平均14.2%であった。まず、TBXの効果については8例での検討の結果、 10^{-4}M の濃度において抑制率は $50.1 \pm 8.1\%$ 、 10^{-5}M で $41.7 \pm 7.8\%$ 、 10^{-6}M で $34.2 \pm 7.2\%$ と、用量依存的に好酸球の遊走を有意に抑制することがわかった。つぎに、hydrocortisoneについては、8例中2例はどの濃度においてもまったく抑制効果がみられなかった。効果のみられた6例における検討では、 10^{-5}M での抑制率は

図4 The percent inhibition of TBX and hydrocortisone on PAF (10^{-6} M)-induced eosinophil chemotaxis

Values are the mean $\pm$ SEM of eight (TBX) or six (hydrocortisone) patients.

* significantly different from the control value ($P < 0.05$).

$57.3 \pm 4.8\%$, 10^{-6} M で $41.9 \pm 14.9\%$, 10^{-7} M で $31.7 \pm 11.3\%$ と, TBX と同様, 用量依存的に好酸球の遊走を有意に抑制した。

考 察

近年, 気管支喘息の新たな理解が深まるとともに, 数多くの抗アレルギー薬が開発されてきている。しかし, 現時点で実際に臨床で使用できる薬剤のうち好酸球遊走に対し, 特にその臨床血中濃度域で効果を認めているものは数多くはない。

今回の検討において, 抗アレルギー薬 TBX は, 10^{-6} ~ 10^{-4} M の濃度で, 用量依存的に PAF 刺激によるヒト好酸球遊走を有意に抑制することが認められた。さらに, この効果は TBX が好酸球に細胞障害性を呈した結果ではないことも確認した。ヒトに通常投与量の TBX 10 mg を投与した場合の最高血中濃度は約 3×10^{-6} M に達することが報告されており⁷⁾, このことから TBX は臨床血中濃度域でも好酸球遊走を抑制する可能性が示唆された。

in vitro での好酸球遊走に対する抗アレルギー薬の効果は, これまで数種類の薬剤につき検討されている。Numao らは, ibudilast は今回の TBX と同様に, 臨床濃度付近でもヒト好酸球遊走を有意に抑制するが, tranilast, ketotifen, azelastine

にはその抑制効果が認められないと報告している^{8,9)}。一方 Nabe らは, ketotifen にヒト好酸球遊走の抑制効果を認めているが¹⁰⁾, その濃度は臨床血中濃度を上回っており, この点では Numao らと同様の結果といえる。しかし, 臨床濃度域の ketotifen がヒト好酸球遊走を抑制する可能性のあることも, Morita らのヒト好酸球性白血病細胞株を用いた研究により示唆されている¹¹⁾。このほか, nedocromil sodium と sodium cromoglycate に関しては, Kurihara らはヒト好酸球遊走抑制効果はないとしているが¹²⁾, Bruijnzeel らは有意に抑制することを報告している¹³⁾。このように, 現時点では各抗アレルギー薬の好酸球遊走への直接作用の有無には, まだ一定の見解が得られていない部分もあり, その作用機序の詳細も不明である。

今回検討した TBX は, ピリドピリミジン構造を有する化合物で, 基礎実験においてラットおよびモルモットの passive cutaneous anaphylaxis 反応を抑制し, ヒト, ラットおよびモルモットの肺組織, ヒト末梢白血球などからの chemical mediator 遊離抑制作用, また, 気管支平滑筋弛緩作用などが認められている¹⁴⁾。さらに最近, TBX (3.8×10^{-7} ~ 3.8×10^{-5} M) によりラット腹腔肥満細胞の脱顆粒を抑制することも示され, この抑制機序としては TBX のホスホリパーゼ C 活性化阻害を主体としたイノシトールリン脂質代謝への抑制作用であることが報告されている¹⁵⁾。このように, 抗アレルギー薬においてイノシトールリン脂質代謝を抑制することが明らかにされている薬剤は, 筆者の知る限りではいまのところない。現時点では詳細な好酸球遊走機序は不明であるが, たとえば遊走因子としての PAF が好酸球細胞膜上の PAF receptor に結合したのち, 一つはイノシトールリン脂質代謝が重要な役割を果たしていることが想定されている¹⁶⁾。したがって, TBX のイノシトールリン脂質代謝の抑制作用が, 好酸球遊走における細胞内情報伝達機構にも影響を及ぼしているのではないかと考えられる。

つぎに, 副腎皮質ステロイドの hydrocortisone は今回の検討の結果, 細胞障害性を呈することなく 10^{-7} ~ 10^{-5} M の濃度において有意にヒト好酸球遊走を抑制することが認められた。ヒトに hydrocortisone を 100 mg 静脈注射したときの血

中濃度は最高約 $4 \times 10^{-6} \text{M}$ に達し¹⁷⁾, また 300 mg を静脈注射した 60 分後の血中濃度は約 $7 \times 10^{-6} \text{M}$ と報告されており¹⁸⁾, これも TBX と同様に臨床血中濃度域で好酸球遊走抑制作用を示す可能性が示唆された。

ステロイドの *in vitro* における好酸球遊走に対する効果をみたものとして, Kurihara ら¹²⁾, 沼尾ら⁹⁾ は, 臨床血中濃度付近ではヒト好酸球遊走を抑制しないことを報告している。また, Clark らはステロイドの経口投与後に採取したヒト好酸球の遊走能は抑制されることを示しているが¹⁹⁾, *in vivo* での他の細胞を介した好酸球への影響も考えられ, 今回の結果とは直接比較できない。一方, Altman らは hydrocortisone は約 $2 \times 10^{-5} \text{M}$, もしくは約 $2 \times 10^{-6} \text{M}$ の濃度においても有意にヒト好酸球遊走を抑制すると報告しており¹⁸⁾, 臨床濃度域でも抑制効果が認められるという今回の結果を支持するものと思われる。また Prin らは, 好酸球増多症候群 (HES) の患者間では好酸球 glucocorticoid receptor 発現に heterogeneity があり, 約半数の HES 患者の好酸球においては glucocorticoid binding site が欠落しており, この binding site の存在する患者好酸球は PAF による遊走が dexamethasone で抑制されるが, 欠落した患者の好酸球ではこの抑制効果が認められないことを報告している²⁰⁾。アトピー性疾患で好酸球増多を示す患者末梢血好酸球においても同じことが当てはまると仮定すれば, 今回検討した 8 例中 2 例の hydrocortisone にまったく反応しなかった好酸球には, あるいは glucocorticoid receptor に欠陥が存在した可能性がある。実際, この 2 例は臨床的にもステロイド抵抗性であった。今後, これらの症例の好酸球 glucocorticoid receptor についても検索する予定である。いずれにせよ, 今回の検討により hydrocortisone は, 症例によっては直接好酸球に作用し, その遊走能を抑制することが示唆された。

in vitro での薬剤の作用が, *in vivo* でもまったく同じようにみられるとは限らない。しかし, TBX および hydrocortisone の臨床血中濃度域においてヒト好酸球遊走に対する抑制効果が認められたことは, 実際の生体内でも抑制が起こっている可能性を示唆している。今後, その作用機序のさらなる解明と, 遊走以外の好酸球機能への影響につ

いて検討が必要と思われる。

稿を終えるにあたり, ご指導, ご校閲を賜りました水島 裕教授, 坂根 剛教授, 中川武正助教授, 山下直美講師に深謝致します。また本研究のご指導を賜った帝京大学医学部第二内科学大田 健助教授に深謝致します。さらに, 本研究にご協力いただきました皮膚科学溝口昌子教授, 難病治療研究センター中島敏治助手に深謝致します。

本論文の要旨の一部は, アレルギー・好酸球研究会 1992 (東京) において発表した。

文 献

- 1) Gleich, G.J., Adolphson, C.R.: The eosinophilic leukocyte: structure and function. *Adv. Immunol.* 39: 177-253, 1986.
- 2) Venge, P., Håkansson, L.: Current understanding of the role of the eosinophil granulocyte in asthma. *Clin. Exp. Allergy* 21(suppl. 3): 31-37, 1991.
- 3) Wegner, C.D., Gundel, R.H., Reilly, P., Haynes, N., Letts, L.G., Rothlein, R.: Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. *Science* 247: 456-459, 1990.
- 4) 津田眞五, 宮里 稔, 名嘉眞武国, 井料香代子, 加藤恵子, 田中克己: 好酸球を扱う実験操作法。皮膚の好酸球浸潤とその周辺。(吉田彦太郎, 津田眞五・編), 臨床医薬研究協会, 東京, 1990, p 260-295.
- 5) Hansel, T.T., Pound, J.D., Pilling, D., Kitas, G.D., Salmon, M., Gentle, T.A., Lee, S.S., Thompson, R.A.: Purification of human blood eosinophils by negative selection using immunomagnetic beads. *J. Immunol. Methods* 122: 97-103, 1989.
- 6) Little, M.M., Casale, T.B.: Comparison of platelet-activating factor-induced chemotaxis of normodense and hypodense eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.* 88: 187-192, 1991.
- 7) 金原美穂子, 中村 昭, 松井静雄: ヒトにおける TBX の血漿中濃度と尿中排泄。薬理と治療 18: 1035-1040, 1990.
- 8) Numao, T., Fukuda, T., Fukushima, Y., Akutsu, I., Majima, K., Makino, S.: Inhibitory effect of ibudilast on platelet activating factor-induced eosinophil chemotaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 87: 282, 1991.
- 9) 沼尾利郎, 福田 健, 阿久津郁夫, 牧野莊平: ヒト末梢血好酸球遊走に及ぼす臨床濃度での抗喘息薬の影響。日胸疾会誌 29: 65-71, 1991.
- 10) Nabe, M., Miyagawa, H., Agrawal, D.K., Sugiyama, H., Townley, R.G.: The effect of ketotifen on eosinophils as measured at LTC₄ release and by chemotaxis. *Allergy Proc.* 12: 267-271, 1991.

- 11) Morita, M., Tsuruta, S., Mori, K.J., Mayumi, M., Mikawa, H.: Ketotifen inhibits PAF-induced actin polymerization in a human eosinophilic leukaemia cell line, EoL-1. *Eur. Respir. J.* 3: 1173-1178, 1990.
- 12) Kurihara, K., Wardlaw, A.J., Moqbel, R., Kay, A.B.: Inhibition of platelet-activating factor (PAF)-induced chemotaxis and PAF binding to human eosinophils and neutrophils by the specific ginkgolide-derived PAF antagonist, BN 52021. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83: 83-90, 1989.
- 13) Bruijnzeel, P.L.B., Warringa, R.A.J., Kok, P.T.M., Kreukniet, J.: Inhibition of neutrophil and eosinophil induced chemotaxis by nedocromil sodium and sodium cromoglycate. *Br. J. Pharmacol.* 99: 798-802, 1990.
- 14) 川島敏男, 富岡玖夫, 吉田 尚: TBX によるヒト白血球および肺組織からのケミカルメディエーター遊離抑制. *アレルギー* 37: 438-447, 1988.
- 15) Fujimiya, H., Nakashima, S., Miyata, H., Nozawa, Y.: Effect of a novel antiallergic drug, pemirolast, on activation of rat peritoneal mast cells: inhibition of exocytotic response and membrane phospholipid turnover. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 96: 62-67, 1991.
- 16) Barnes, P.J., Kroegel, C., Yukawa, T., Dent, G., Chung, K.F.: *Pharmacology of eosinophils. Eosinophils, Allergy and Asthma* (ed. Kay, A.B.), Blackwell scientific publications, London, 1990, p 144-157.
- 17) Dwyer, J., Lazarus, L., Hickie, J.B.: A study of cortisol metabolism in patients with chronic asthma. *Aust. Ann. Med.* 16: 297-303, 1967.
- 18) Altman, L.C., Hill, J.S., Hairfield, W.M., Mullarkey, M.F.: Effects of corticosteroids on eosinophil chemotaxis and adherence. *J. Clin. Invest.* 67: 28-36, 1981.
- 19) Clark, R.A.F., Gallin, J.I., Fauci, A.S.: Effects of *in vivo* prednisone on *in vitro* eosinophil and neutrophil adherence and chemotaxis. *Blood* 53: 633-641, 1979.
- 20) Prin, L., Lefebvre, P., Gruart, V., Capron, M., Storme, L., Formstecher, P., Loiseau, S., Capron, A.: Heterogeneity of human eosinophil glucocorticoid receptor expression in hypereosinophilic patients: absence of detectable receptor correlates with resistance to corticotherapy. *Clin. Exp. Immunol.* 78: 383-389, 1989.