

各種皮膚疾患における T 細胞サブセットおよび ランゲルハンス細胞の免疫組織化学的解析

川崎医科大学 皮膚科

(指導：植木宏明教授)

河 内 山 明

(昭和50年2月7日受付)

Immunohistochemical Analysis of T cell Subsets and Langerhans Cells in Various Dermatoses

Akira Kohchiyama

Department of Dermatology, Kawasaki Medical School

(Accepted on February 7, 1985)

発症要因として免疫学的因子の関与が考えられる疾患を主体とした数種の皮膚疾患の T 細胞サブセットおよび Langerhans 細胞についてモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的解析を行った。

全身性エリテマトーデスの浸潤単核球の大部分は OKT 3, OKIa 1, および OKT 8 陽性の活性化された suppressor/cytotoxic T 細胞であったが一方、円板状エリテマトーデス、菌状息肉症（浸潤期）、環状肉芽腫症（限局型）および円形脱毛症においては OKT 3, OKIa 1, OKT 4 陽性の活性化 helper/inducer T 細胞が優位であった。深在性エリテマトーデスの T 細胞サブセットに関しては一致した所見が得られなかったが同症患者の真皮にみられたリンパ泡様構造は免疫組織化学的に正常ヒトリンパ組織と同様の細胞構築を示した。

OKT 6 陽性の樹枝状細胞（Langerhans 細胞）は、一部の全身性エリテマトーデス患者の表皮内、菌状息肉症の表皮内および真皮内、更に progressive stage の円形脱毛症の毛包内に多数認められた。

このような皮膚組織における T 細胞サブセットおよび Langerhans 細胞の変化は細胞性免疫機構の表現の一つであり、病態解析のみならず臨床上重要な意義を持つものと考えられる。

Immunohistochemical analysis of T cell subsets and Langerhans cells was performed in various dermatoses using the avidin-biotin-peroxidase complex method with monoclonal antibodies. In patients with untreated systemic lupus erythematosus, the majority of the infiltrates reacted with OKT 3, OKIa1, and OKT 8, indicating that they were activated suppressor/cytotoxic T cells. On the

other hand, a predominance of activated helper/inducer T cells (OKT 3+, OKIa1+ and OKT 4+) was observed in lesions of discoid lupus erythematosus, mycosis fungoides, granuloma annulare and alopecia areata. In lupus panniculitis, T cell subsets were variable, and the lymphoid follicles showed the same distribution of T and B cells as that of normal human lymphoid tissues. An increased number of OKT 6+ dendritic cells (Langerhans cells) was observed in the epidermis of some patients with systemic lupus erythematosus, in both epidermis and dermis of patients with mycosis fungoides and in the hair follicles of patients with alopecia areata.

The significance of the changes in T cell subsets and Langerhans cells was discussed.

Key Words ① Monoclonal antibody ② T cell subsets ③ Langerhans cells

はじめに

リンパ球は数種類の異なるサブセットから構成され、免疫反応はこれらの相互作用および直接作用により営まれていることが知られている。皮膚科領域において免疫学的因子がその発病に重要な役割りを果たしていると考えられる疾患は多数存在するが皮膚組織における免疫担当細胞の解析には種々の制約がありその詳細な研究は困難であった。しかし、近年ハイブリドーマ¹⁾より得られるモノクローナル抗体^{2),3)}が導入されるに至り局所における免疫担当細胞の病態解析は飛躍的に進歩し種々の研究が成されている。今回著者は、抗ヒトモノクローナル抗体を用いて数種類の皮膚疾患の皮疹部のT細胞サブセットおよびLangerhans細胞について免疫組織化学的解析を行い若干の知見を得たので報告する。

例、菌状息肉症(浸潤期) 3例、環状肉芽腫(限局型) 3例、円形脱毛症12例 (progressive stage 6例, stationary stage 6例)、正常人頭皮6例、計38例より皮膚生検材料を採取した。生検皮膚は直ちに-80°Cに凍結保存し、-30°Cのクリオスタット内にて厚さ4~6μmの凍結切片を作製し、室温にて十分に風乾した。

2) 使用した抗体

① 一次抗体 (Table 1): 6種類のマウス抗ヒトモノクローナル抗体(OrthoDiagnostic製)を用いた。各モノクローナル抗体の特異性は既に証明されている。^{4)~6)}

② 二次抗体: 二次反应用抗体としては、ウマを用いて作製されたビオチン化抗マウスIgG (VECTASTAIN製)を用いた。

③ 三次抗体: 三次抗体としては、アビジン

Table 1. Monoclonal antibodies used in the study

Antibody (Trade designation)	Reacting with
OKT 3	Pan T-cells
OKT 4	Helper/inducer T-cells
OKT 6	Thymocytes, Langerhans cells
OKT 8	Suppressor/cytotoxic T-cells
OKIa1	B-cells, monocytes, activated T-cells, endothelial cells, Langerhans cells
OKB 7	B-cells

対象および方法

1) 皮膚生検材料

全身性エリテマトーデス (未治療, 急性期: 発症から受診までの期間: 20日 ~ 1年, 平均5.7ヵ月) (SLE) 6例, 円板状エリテマトーデス (DLE) 6例, 深在性エリテマトーデス 2

Table 2. Method

Step 1.	Fix in acetone for 10 minutes at 4°C.
Step 2.	Rinse in 0.05M Tris-HCl buffer, pH 7.6 for 10 minutes.
Step 3.	Incubate sections for 20 minutes with diluted normal horse serum at room temperature.
Step 4.	Blot excess serum from sections.
Step 5.	Incubate sections for 60 minutes with the monoclonal antibodies (OKT3, OKT4, OKT6, OKT8, OKIa1 and OKB7 1:10-1:100) at room temperature.
Step 6.	Wash slides for 10 minutes in buffer.
Step 7.	Incubate sections for 30 minutes with diluted biotinylated horse anti-mouse Ig G at room temperature..
Step 8.	Wash slides for 10 minutes in buffer.
Step 9.	Incubate sections for 60 minutes with ABC reagent at room temperature.
Step 10.	Wash slides for 10 minutes in buffer.
Step 11.	Incubate sections for 3 minutes in peroxidase substrate solution (utilizing 0.05% 3,3'-diaminobenzidine and 0.01% hydrogen peroxide).
Step 12.	Counterstain in hematoxylin, clean and mount

DH と ビオチン化 ワサビペルオキシダーゼ H 試薬から調製した Avidin-Biotin-peroxidase Complex (ABC) (VECTASTAIN 製) を用いた。

3) 免疫組織化学的検索

前記したごとく4~6 μm の凍結切片について ABC を用いた酵素抗体法^{7,8)} を施行した (Table 2)。なお、対照として①一次抗体を除く、②一次抗体のかわりに非免疫マウス血清を用いる、③内因性ペルオキシダーゼ検討のための diaminobenzidine による反応を行った。

結 果

モノクローナル抗体を用いた凍結切片による ABC 法では陽性細胞は細胞表面に沿っ

てリング状に褐色に染色され、好中球、好酸球、マクロファージ等が示す内在(因)性ペルオキシダーゼ活性、あるいは赤血球の偽ペルオキシダーゼ反応との識別は比較的容易であった。また、対照として用いた切片は全て陰性であった。

1. SLE (Table 3)

未治療、急性期 SLE 患者の紅斑部では全例において真皮浸潤単核球の約75%以上は OKT 3 陽性の T 細胞群に属し、B 細胞はほとんど認めなかった。更にこれらの大部分は OKIa 1 陽性であることから活性化された T 細胞と考えられた。T 細胞サブセット解析では OKT 8 陽性の suppressor/cytotoxic T 細胞が優位であり (Fig. 1), OKT 4/OKT 8 比は 1:2~1:3 であった。更に OKT 8 陽性細胞の表皮内 (Fig. 2) および付属器周囲への浸潤を認めた。表皮内の OKT 6 陽性樹枝状細胞 (Langerhans 細胞) は 4 例では全表皮細胞数の 5% 以下であったが 2 例において増加がみられた。なお、真皮内には同細胞を認めなかった。

2. DLE (Table 3)

いわゆる“円板状皮疹部”における真皮浸潤単核球の約75%以上は活性化された T 細胞であったが T 細胞サブセット解析では SLE と

Table 3. T cell subsets and epidermal Langerhans cells in untreated SLE and DLE skin lesions

Patients	OKT3	OKT4	OKT8	OKT4/ OKT8	OKB7	OKT6*
SLE 1	++++	+	+++	1:3	±	10-15
2	++++	+	+++	1:3	±	<5
3	++++	+	+++	1:3	±	<5
4	++++	+	++	1:2	±	5-10
5	++++	+	++	1:2	±	<5
6	++++	+	++	1:2	±	<5
DLE 1	++++	++	+	2:1	±	<5
2	++++	++	++	1:1	±	<5
3	++++	+++	+	3:1	±	<5
4	++++	+++	+	3:1	±	<5
5	++++	++	+	2:1	±	<5
6	++++	+++	+	3:1	±	<5

±=sporadic; +=1-25%; ++=25-50%; +++=50-75%;
++++=75-99%

*=percentage of OKT6 positive dendritic cells of all epidermal cells

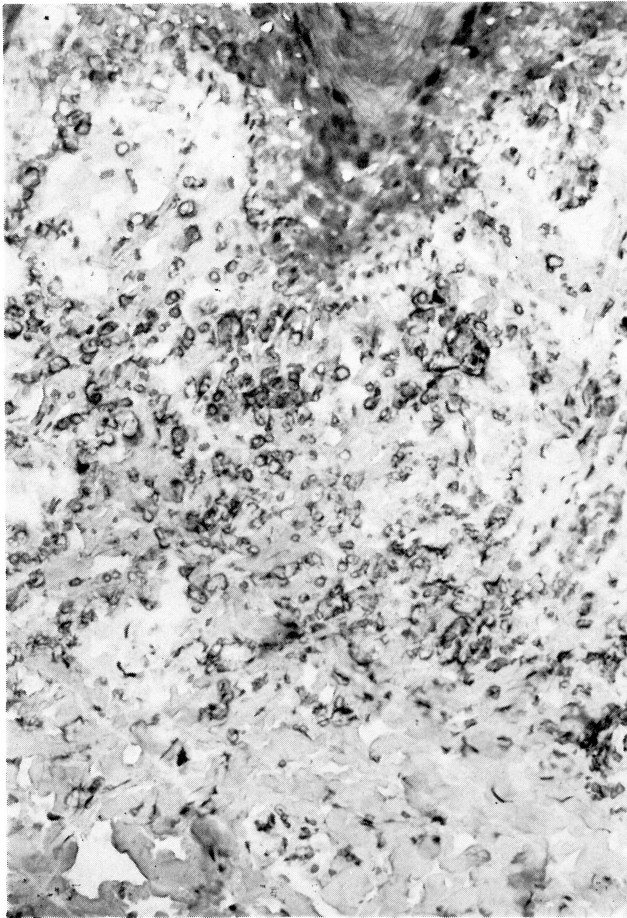


Fig. 1. Cryostat section of a patient with SLE incubated with OKT8. A large proportion of the dermal infiltrates show membrane staining (ABC method, $\times 200$)

は全く対照的な所見を呈した。すなわち OKT 4 陽性の helper/inducer T 細胞が優位であり (Fig. 3), OKT 4/OKT 8 比は 1:1~3:1 であった。また、OKT 8 陽性細胞の表皮内浸潤を認めたが OKT 4 陽性細胞は表皮内にはみられなかった。表皮内の OKT 6 陽性細胞は全例において全表皮細胞数の 5% 以下であり、増加を認めず真皮内にも観察されなかった。

3. 深在性エリテマトーデス

真皮深層以下の主として血管周囲に T 細胞から成る細胞浸潤がみられたが T 細胞サブセットに関しては 2 例に一致した所見が得られなかった。また、真皮深層の血管周囲に OKB 7 陽性の

B 細胞とその周囲を取り込む T 細胞 (Fig. 4) から成るリンパ濾胞様構造を認めた。表皮内に OKT 6 陽性細胞の増加はみられず真皮内にも観察されなかった。

4. 菌状息肉症 (浸潤期)

本症では 3 例共同様の所見を呈した。すなわち真皮に浸潤する腫瘍細胞のほとんどは OKT 3 および OKIa 1 陽性の活性化 T 細胞であった。T 細胞サブセット解析では、真皮浸潤細胞においては helper/inducer T 細胞が優位 (OKT 4/OKT 8 比=4:1~3:1) であった。また、表皮の pautrier microabscess 内に OKT 8 陽性細胞を認めた (Fig. 5) が OKT 4 陽性細胞は存在しなかった。OKT 6 陽性細胞は表皮内のみならず真皮浸潤細胞中にも多数みられた。

5. 環状肉芽腫 (限局型)

真皮膠原線維の変性部を取り囲む様に柵状配列を示す単核球の大部分は OKT 3, OKIa 1 陽性の活性化 T 細胞であり、そのサブセットに関しては helper/inducer T 細胞が優位であった。真皮血管周囲の浸潤細胞も同様の抗原性を呈

した。OKT 6 陽性細胞は表皮内においては増加を認めず真皮内には存在しなかった。

6. 円形脱毛症および正常人頭皮

未治療の円形脱毛症の progressive stage, stationary stage, 対照としての正常人頭皮の各々 6 例において毛包内の Langerhans 細胞および毛包内、毛包周囲の浸潤細胞について検討した。Langerhans 細胞比率の算定に際しては、約 1,000 個以上の毛包上皮細胞から構成される比較的大型の毛包を対象とした。そして各症例とも 5 個の連続切片において毛包内の OKT 6 陽性樹枝状細胞をカウントし全毛包上皮細胞数に対する比率を算定した。

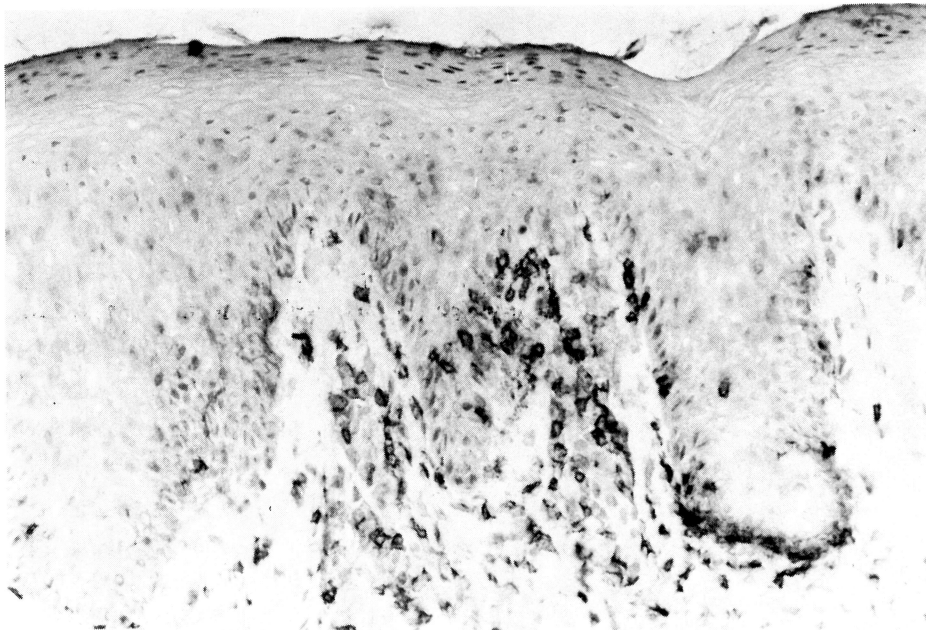


Fig. 2. Cryostat section of a patient with SLE. Some OMT8 positive cells infiltrated into the epidermis (ABC method, $\times 200$)

a) 毛包内 Langerhans 細胞の検討

(Table 4)

正常人頭皮において OKT 6 陽性細胞は毛包の上方のみに少数観察されたが毛球部には存在しなかった。同細胞の全毛包上皮細胞中に占める比率は $1.0 \pm 0.1\%$ (Mean \pm SE) であった。円形脱毛症の stationary stage においても同細胞は対照と同様の分布および比率 ($1.1 \pm 0.1\%$) を呈した。一方, progressive stage では陽性細胞は毛包上方のみならず毛球部にも観察され, 更にその比率 ($4.9 \pm 0.3\%$) は対照に比べ有意 ($p < 0.005$) の増加を認めた (Fig. 6)。

b) 毛包内および毛包周囲の浸潤細胞の検討
progressive stage の患者では, 毛包周囲の浸潤細胞の大部分は helper/inducer T 細胞であり (Fig. 7), OKT 4/OKT 8 比は 3:1~4:1 であった。毛包内には少数の T 細胞の浸潤がみられたが, その絶対数が少ないため T 細胞サブセットの正確な解析は困難であった。stationary stage においても毛包周囲および毛包内の浸潤細胞は極く少数であり同様に解析

できなかった。

考 察

SLE は過剰の免疫グロブリンおよび自己抗体の産生によって特徴づけられる自己免疫疾患であり, 実際に B 細胞機能の亢進, T 細胞機能の低下^{9),10)} を認めるも, SLE の発症において細胞性免疫の関与は軽視されていた。しかし近年, 患者末梢血中において OKT 8 陽性細胞の機能異常,^{11),12)} OKT 4 陽性細胞の減少¹³⁾ および OKT 8 陽性細胞の増加^{14),15)} が報告されに至り T 細胞の関与した自己免疫機構が SLE の発症に重要な役割りを果たすことが示唆されている。また, SLE と DLE はエリテマトーデスにおいて最も重要な位置を占めるものである¹⁶⁾ が, 果たして両者が異なる疾患であるのか, あるいは同一疾患の variant であるのか未だ統一した見解は得られていない。Kontinen ら¹⁷⁾ は acid α -naphthyl acetate esterase 法を用いた組織化学的検索を行い, 皮疹部における浸潤単

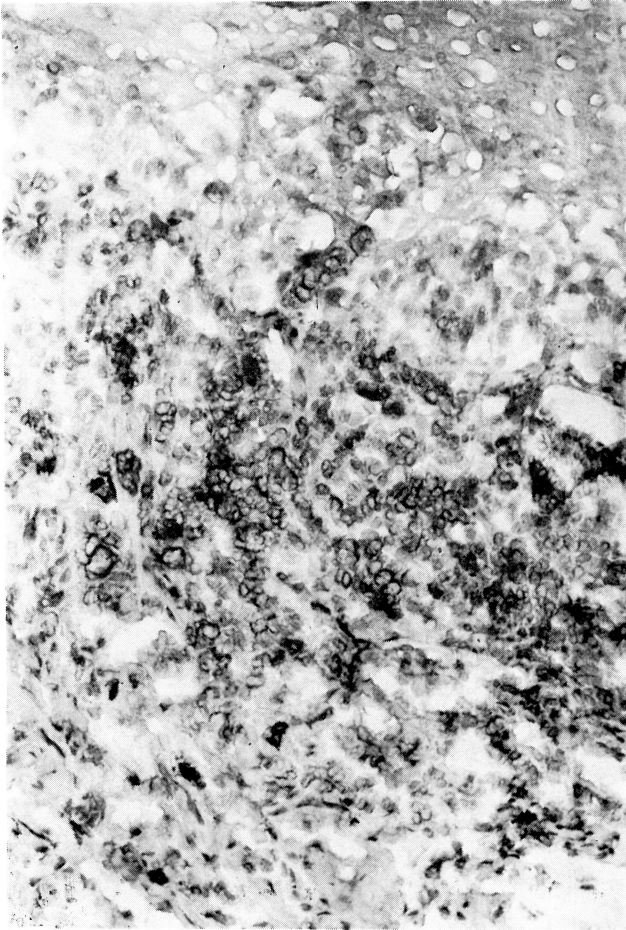


Fig. 3

核球は両疾患ともT細胞であることを示した. その後 Bjerke¹⁸⁾は抗ヒトリンパ球モノクローナル抗体を用いて DLE における helper/inducer T細胞の優位性を明らかにした. 更に Synkowski ら¹⁹⁾は SLE の浸潤細胞の T細胞サブセット解析を試みたが2つのサブセット間における有意差を認め得ず SLE に関しては未だ明確な報告はない. 今回の著者の結果は, DLE では OKT 4 陽性細胞の優位性を認め Bjerke の結果を支持するものであった. しかし SLE においては全く対照的に OKT 8 陽性細胞が優位であった. 臨床的に SLE と強い類似性を示す chronic graft-versus-host disease²⁰⁾ の皮疹部においても OKT 8 陽性細胞の優位性が報告されており, こ

Fig. 3. Cryostat section of a DLE lesion from the lower lip. A large proportion of the infiltrates reacted with OKT4 (ABC method, $\times 200$)

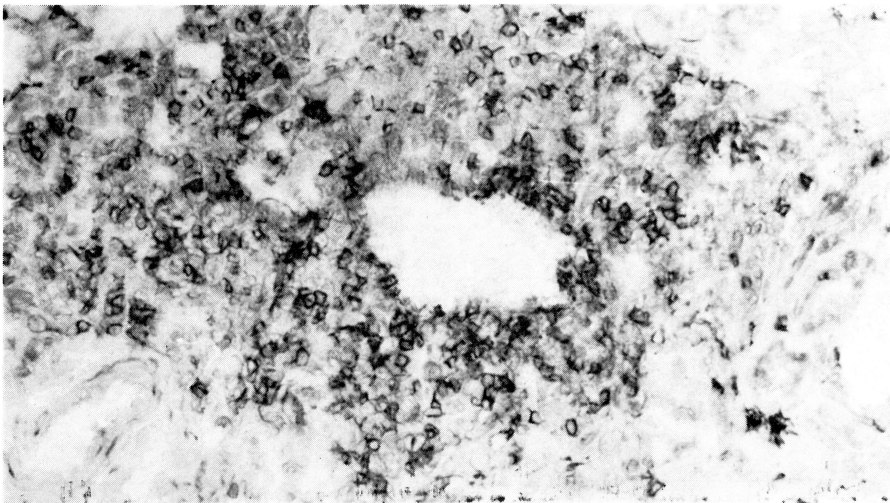


Fig. 4. Lymphoid follicle in a patient with lupus panniculitis. A large number of OKT3 positive (pan T) cells were found in the marginal zone (ABC method, $\times 200$)

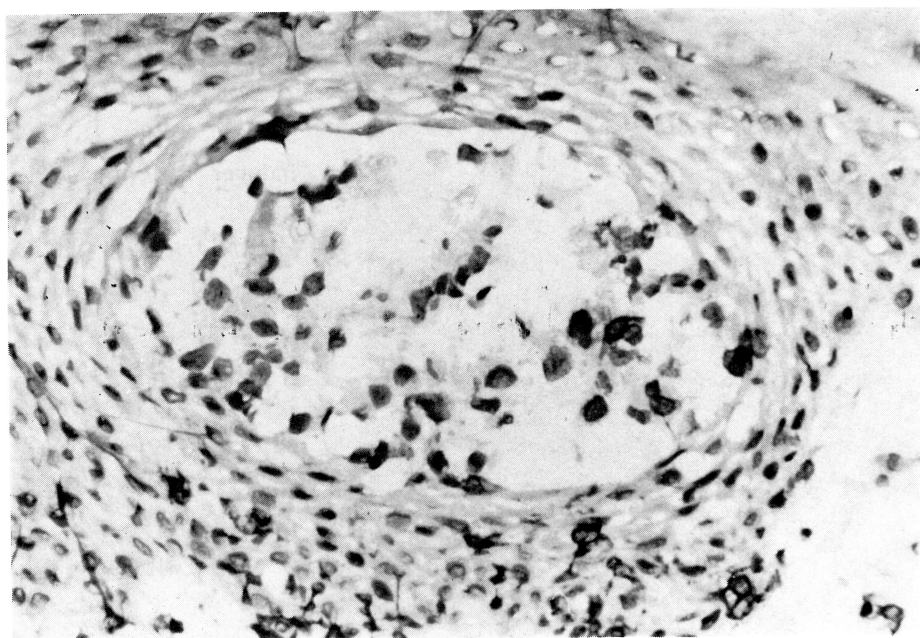


Fig. 5. Cryostat section of a patient with mycosis fungoides. Some OKT8 positive cells were observed in the pautrier microabscess (ABC method, $\times 400$)

Table 4. OKT6 positive dendritic cells in the hair follicles

Subjects	Total number of positive cells*	Total number of epithelial cells of the hair follicles*	Percentage of positive cells	Mean \pm SE(%)	
Normal individuals	1	41	5103	0.8	1.0 \pm 0.1
	2	68	5475	1.2	
	3	58	5695	1.0	
	4	68	6255	1.0	
	5	48	5295	0.9	
	6	53	5155	1.0	
Alopecia areata (Progressive stage)	1	283	5030	5.6	4.9 \pm 0.3**
	2	202	5755	3.5	
	3	244	5290	4.6	
	4	289	5529	5.2	
	5	258	5045	5.1	
	6	268	5139	5.2	
Alopecia areata (Stationary stage)	1	58	5269	1.1	1.1 \pm 0.1
	2	48	5312	0.9	
	3	62	5035	1.2	
	4	57	5129	1.1	
	5	63	6120	1.0	
	6	65	5983	1.0	

Biopsy samples obtained from 6 patients with untreated alopecia areata in the progressive stage, 6 in the stationary stage and 6 normal individuals were used.

*: Total number of the cells in 5 serial sections

Difference from normal individuals: ** $p < 0.005$

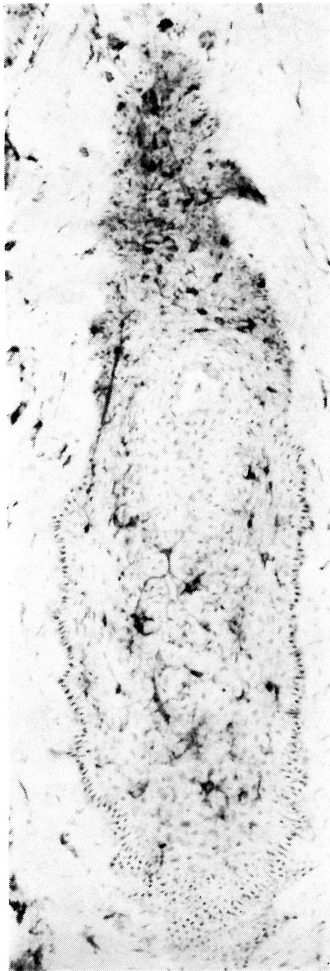


Fig. 6. Cryostat section of a hair follicle from a patient with alopecia areata in the progressive stage. Many OKT6 positive dendritic cells (Langerhans cells) are present (ABC method, $\times 100$)

れは著者の SLE における結果を間接的に支持するものとする。また、今回 SLE 患者 6 例中 2 例において表皮 Langerhans 細胞数 (正常値: 全表皮細胞中の 2~4%)²²⁾ の増加を認めしたが DLE では増加傾向はなかった。DLE では表皮 Langerhans 細胞数の減少²³⁾ が報告されているが、SLE においては詳細な報告はなく今後更に検討が必要と思われる。更に著者は SLE および DLE の表皮内に suppressor/

cytotoxic T 細胞を認めたが同細胞は表皮内に存在する何らかの抗原性物質に対して浸潤しており、更に抗原提供がその重要な機能である表皮 Langerhans 細胞²²⁾ との間に密接な関係を持つと推察する。今回の結果から SLE と DLE の発症には共に液性免疫に加え細胞性免疫機構が重要な役割りを果たすと考えられるが、両疾患の皮疹部浸潤細胞は明らかに異なる抗原性を有しており、免疫組織化学的に全く異なる疾患であることが示された。

深在性エリテマトーデスの約 24% において真皮および皮下脂肪織にリンパ球様構造を認める²⁴⁾ ことが報告されているが今回著者の得た所見はこれが免疫組織化学的にヒト正常リンパ組織と同様の細胞構築であることを示した。

菌状息肉症 (浸潤期) の真皮中の腫瘍細胞はほとんどが helper/inducer T 細胞であり suppressor/cytotoxic T 細胞は極く少数であることが報告されており、^{25), 26)} 著者の結果も同様であった。更に病期の進行に従い suppressor T 細胞比率が減少するのみでなく全 T 細胞および helper T 細胞の抗原性を示さない芽球様細胞が出現し予後的に意義がある²⁷⁾ と考えられている。これに関連して仲田ら²⁸⁾ は腫瘍期皮疹部において腫瘍細胞に T リンパ球マーカー酵素活性の減弱および B リンパ球マーカー酵素活性の出現を認め、これを腫瘍化による細胞形質の変化と考察した。また、Holden ら²⁹⁾ は表皮内の microabscess 内には suppressor/cytotoxic T 細胞が存在しないことからこれを反応性の非腫瘍性リンパ球であるとしたが著者は microabscess 内に同細胞を認めており、その意義については今後更に検討が必要と思われる。本症において OKT 6 陽性細胞が表皮内のみならず真皮内にも存在することは既に報告されている。²⁶⁾

環状肉芽腫の病因は未だ明らかでないが、近年細胞性免疫の関与が示唆されている。³⁰⁾ Buechner ら³¹⁾ は免疫組織化学的に本症の柵状肉芽腫および血管周囲の浸潤細胞は大部分が活性化 helper/inducer T 細胞であることを

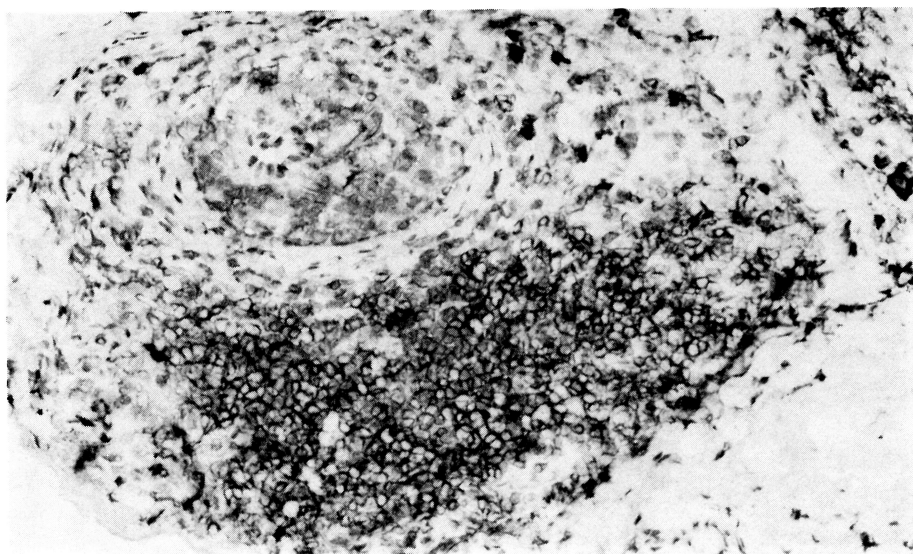


Fig. 7. Cryostat section of a patient with alopecia areata in the progressive stage. OKT4 antibody reacted with the most of peribulbar infiltrates (ABC method, $\times 200$)

示し、更に細胞性免疫能の低下を特徴とするサルコイドーシスの皮疹部でも同様の所見を認める³²⁾ことや、ツベルクリン型皮内反応を施行した際に本症と同様の柵状肉芽腫を生じうる³³⁾という事実はいずれも本症と細胞性免疫機構の密接な関係を支持するものであろう。

円形脱毛症の発症にも免疫学的因子の関与が近年注目されており、^{34), 35)}免疫組織化学的に毛包周囲および毛包内に helper/inducer T細胞の浸潤がみられる³⁶⁾ことが確認されている、また、皮膚における重要な免疫担当細胞である Langerhans 細胞³⁷⁾は正常人頭皮の毛包内にも存在する³⁸⁾が、その細胞数比率については未だ報告がない。本症の毛包内 Langerhans 細胞に関してもわずかに Rankiら、³⁹⁾および Wiesner-Menzel ら⁴⁰⁾の報告があるが、いずれもその細胞数比率に関する検討は成されていない。そこで著者はより詳細な解析を行うため、患者をその病勢により progressive stage および stationary stage の二群に分けその分

布の違いを観察し更に細胞比率を算定し統計学的検討を加えた。その結果、stationary stage における毛包内 Langerhans 細胞の分布および比率は正常人頭皮におけるそれとほぼ同様であったが、progressive stage ではその分布が著明に変化し細胞比率も統計学的に有意に増加していることが明らかとなった。本症の病態においては毛包内 Langerhans 細胞とその周囲に浸潤する helper/inducer T細胞の相互関係が重要な意義を持つと考えられる。

このような病変部における T細胞サブセットおよび Langerhans 細胞の動態の観察は、各疾患の病態解析のみならず鑑別診断、経過、予後を判定するパラメーターとなりうる可能性を秘めていると考えられ、今後更に詳細な観察および検討が必要と思われる。

稿を終えるに当たり、御指導、御校閲を賜った植木宏明教授に深謝し、同時に当教室の先生方の御協力に感謝致します。

文 献

- 1) Kohler, G. and Milstein, C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 256 : 495—497, 1975
- 2) Kung, P. C., Talle, M. A., DeMaria, M. E., Butler, M. S., Lifter, J. and Goldstein, G.: Strategies for generating monoclonal antibodies defining human T lymphocyte differentiation antigens. *Transpl. Proc.* 12 : 141—146 (suppl. 1), 1980b
- 3) Williams, A. F., Galfre, G. and Milstein, C.: Analysis of cell surfaces by xenogeneic myelomae hybrid antibodies: Differentiation antigen of rat lymphocytes. *Cell*. 62 : 663—669, 1977
- 4) Kung, P. C., Talle, M. A., DeMaria, M., Ziminski, N., Look, R., Lifter, J. and Goldstein, G.: Creating a useful panel of anti-T cell monoclonal antibodies. *Int. J. Immunopharmac.* 3 : 175—181, 1981
- 5) Berger, C. L., Kung, P., Goldstein, G., Depietro, W., Takezaki, S., Chu, A., Fithian, E. and Ederson, R. L.: Use of orthoclone monoclonal antibodies in the study of selected dermatologic conditions. *Int. J. Immunopharmac.* 3 : 275—282, 1981
- 6) Dubertret, L., Picard, O., Bagot, M., Tulliez, M., Fosse, M., Aubert, C. and Touraine, R.: Specificity of monoclonal antibody anti-T-6 for Langerhans cells in normal human skin. *Br. J. Dermatol.* 106 : 287—289, 1982
- 7) Warnke, R. and Levy, R.: Detection of T and B cell antigens with hybridoma monoclonal antibodies: abiotin-avidin-horseradish peroxidase method. *J. Histochem. Cytochem.* 28 : 771—776, 1980
- 8) Hsu, S. M., Raine, L. and Fanger, H.: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.* 29 : 577—580, 1981
- 9) Abe, T. and Homma, M.: Immunological reactivity in patients with systemic lupus erythematosus: humoral antibody and cellular immune responses. *Acta. Rheum. Scand.* 17 : 35—46, 1971
- 10) Horwitz, D. A.: Impaired delayed hypersensitivity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis. Rheum.* 15 : 353—359, 1972
- 11) Sakane, T., Steinberg, A. D., Patton-Reeves, J. and Green, I.: Studies of immune functions of patients with systemic lupus erythematosus: T cell subsets and antibodies to T cell subsets. *J. Clin. Invest.* 64 : 1260—1269, 1979
- 12) Fauci, A. S., Steinberg, A. D., Hynes, B. F. and Whalen, G.: Immunoregulatory aberrations in systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 121 : 1473—1479, 1978
- 13) Bakke, A. C., Kirkland, P. A., Kitridou, R. C., Quismorio, F. P., Rea, T., Ehresmann, G. R. and Horwitz, D. A.: T lymphocyte subsets in systemic lupus erythematosus: Correlations with corticosteroid therapy and disease activity. *Arthritis. Rheum.* 26 : 745—750, 1983
- 14) Chatenoud, L. and Bach, M. A.: Abnormalities of T cell subsets in glomerulonephritis and systemic lupus erythematosus. *Kidney. Intern.* 20 : 267—274, 1981
- 15) Smolen, J. S., Chused, T. M., Leiserson, W. M., Reeves, J. P., Alling, D. and Steinberg, A. D.: Heterogeneity of immunoregulatory T cell subsets in systemic lupus erythematosus. *Am. J. Med.* 72 : 783—790, 1982
- 16) Rowell, N. R.: Lupus erythematosus, scleroderma and dermatomyositis. In *Textbook of Dermatology*, ed. by Rook, A., Willkinson, D. S. and Ebling, F. J. G. Oxford, Blackwell

Scientific Publications. 1975, pp. 1151—1155

- 17) Kontinnen, Y. T., Reitamo, S., Ranki, A. and Segerberg-Kontinnen M.: T lymphocytes and mononuclear phagocytes in the skin infiltrate of systemic and discoid lupus erythematosus and Jessner's lymphocytic infiltrate. *Br. J. Dermatol.* 104 : 141—145, 1981
- 18) Bjerke, J. R.: Subpopulations of mononuclear cells in lesions of psoriasis, lichen planus and discoid lupus erythematosus studied using monoclonal antibodies. *Acta. Dermatovenereol.* 62 : 477—483, 1982
- 19) Synkowski, D. R. and Provost, T. T.: Enumeration of T cell subpopulations in lupus erythematosus lesions using monoclonal antibodies. *Clin. Res.* 30 : 611A, 1982
- 20) James, MAJ. W. D. and Odom, COL. R. B.: Graft-v-host disease. *Arch. Dermatol.* 119 : 683—689, 1983
- 21) Gomes, M. A., Schmitt, D. S., Souteyrand, P., Ohrt, C., Brochier, J. and Thivolet, J.: Lichen planus and chronic graft-versus-host reaction. In situ identification of immunocompetent cell phenotypes. *J. Cutan. Pathol.* 9 : 249—257, 1982
- 22) Stingl, G., Katz, S. I., Clement, L., Green, I. and Shevach, E. M.: Immunologic functions of Ia-bearing epidermal Langerhans cells. *J. Immunol.* 121 : 2005—2013, 1978
- 23) Sontheimer, R. D. and Bergstresser, P. R.: Epidermal Langerhans cell involvement in cutaneous lupus erythematosus. *J. Invest. Dermatol.* 79 : 237—243, 1982
- 24) Harris, R. B., Duncan, S. C., Ecker, R. I. and Winkelmann, R. K.: Lymphoid follicles in subcutaneous inflammatory disease. *Arch. Dermatol.* 115 : 442—443, 1979
- 25) Buechner, S. A., Winkelmann, R. K. and Banks, P. M.: T cells and T cell subsets in mycosis fungoides and parapsoriasis: A study of 18 cases with anti-human T-cell monodonal antibodies and histochemical techniques. *Arch. Dermatol.* 120 : 897—905, 1984
- 26) Hofman, F. M., Meyer, P. R., Yanagihara, E., Modlin, R. L., Red, T. H., Parker, J. W., Lukes, R. J. and Taylor, C. R.: Demonstration of a subpopulation of Ia⁺ T-helper cells in mycosis fungoides and the Sezary syndrome. *Am. J. Dermatopathol.* 5 : 135—143, 1983
- 27) Willemze, R., Graaff-Reitsmd, C. B., Cnossen, J., Van Vloten, W. A. and Meizer, C. J. L.: Characterization of T-cell subpopulations in skin and peripheral blood of patients with cutaneous T-cell lymphomas and benign inflammatory dermatoses. *J. Invest. Dermatol.* 80 : 60—66, 1983
- 28) 仲田佳子, 太田有史, 佐藤成明, 牧角良介, 横井 清, 海原純子, 田中 貢: Mycosis fungoides における免疫および酵素組織化学的研究. *日皮会誌* 94 : 1055—1059, 1984
- 29) Holden, C. A., Morgan, E. W. and Macdonald, D. M.: The cell population in the cutaneous infiltrate of mycosis fungoides: in situ studies using monoclonal antisera. *Br. J. Dermatol.* 106 : 385—392, 1982
- 30) Winkelmann, R. K., Umbert, P., and kossard, S.: Granuloma annulare: A histiocytic lesion of cell mediated immunity. *G. Ital. Dermatol. Venereol.* 115 : 147—152, 1980
- 31) Buechner, S. A., Winkelmann, R. K. and Banks, P. M.: Identification of T cell subpopulations in granuloma annulare. *Arch. Dermatol.* 119 : 125—128, 1983
- 32) Hunninghake, G. W. and Crystal R. G.: Pulmonary sarcoidosis: A disorder mediated by excess helper T-lymphocyte activity at sites of disease activity. *N. Engl. J. Med.* 305 : 429—434, 1981
- 33) Fisher, I.: An unusual late histologic change seen in the intracutaneous tuberculin reaction. *J. Invest. Dermatol.* 23 : 233—235, 1954
- 34) Friedmann, P. S.: Decreased lymphocyte reactivity and auto-immunity in alopecia areata.

Br. J. Dermatol. 105: 145—151, 1981

- 35) Ledesma, G. N. and York, K. K.: Suppressor cell decrease in alopecia areata. Arch. Dermatol. Res. 274: 1—8, 1982
- 36) Perret, C., Brocker, E. B., Wiesner-Menzel, L. and Happle, R.: In situ demonstration of T cells in alopecia areata. Arch. Dermatol. Res. 273: 155—158, 1982
- 37) Wolff, K. and Stingl, G.: The Langerhans cell J. Invest. Dermatol. 80: 17s—21s, 1983
- 38) Jimbow, K., Sato, S. and Kukita, A.: Langerhans cells of the normal human pilosebaceous system: an electron microscopic investigation. J. Invest. Dermatol. 52: 177—180, 1969
- 39) Ranki, A., Kianto, V., Kanerva, L., Tolvanen, E. and Johansson, E.: Immunohistochemical and electron microscopic characterization of the cellular infiltrate in alopecia (areata, totalis and universalis). J. Invest. Dermatol. 83: 7—11, 1984
- 40) Wiesner-Menzel, L. and Happle, R.: Intrabulbar and peribulbar accumulation of dendritic OKT6-positive cells in alopecia areata. Arch. Dermatol. Res. 276: 333—334, 1984