

Artículo original

Determinación de IL-10 a partir de células mononucleares humanas estimuladas *in vitro* con *Actinomadura madurae*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Candida albicans* y *Madurella mycetomatis*

Alejandro Palma Ramos,* Laura Estela Castrillón Rivera,* Erika Lizette Ramos Navarro,* Carmen Padilla Desgarenes,** María Eugenia Castro Mussot***

RESUMEN

Antecedentes: el micetoma es un síndrome clínico que consiste en la aparición de lesiones inflamatorias deformantes, no dolorosas, y fístulas en los tejidos cutáneo y subcutáneo, la aponeurosis y el hueso. Se origina por la implantación traumática del microorganismo proveniente del suelo, en los tejidos. En 1962, González Ochoa comprobó que cuando los pacientes con actinomycetoma por *Nocardia brasiliensis* mostraban una reacción positiva al ser inoculados con nocardia o tuberculina, tenían un buen pronóstico, mientras que los altos títulos de anticuerpos revelaban una enfermedad más severa. Los macrófagos ejercen distintos efectos en el ser humano; la IL-10 inhibe la producción de IL-1 y TNF, lo cual es una actividad antiinflamatoria, ya que estas citocinas actúan de manera sinérgica en los procesos inflamatorios y amplifican esta respuesta induciendo mediadores como quimiocinas, prostaglandinas y el factor activador de plaquetas (PAF).

Objetivo: estudiar la participación de macrófagos y linfocitos T_H2 humanos productores de IL-10, estimulados *in vitro* con *Actinomadura madurae*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Candida albicans* y *Madurella mycetomatis*, que son agentes inductores de micetoma humano, analizar la expresión de IL-10 e IL-1 β (ARN mensajero) y cuantificar IL-10 en los sobrenadantes de cultivo.

Material y métodos: se activaron las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) con *Actinomadura madurae*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Candida albicans* y *Madurella mycetomatis*. En el sobrenadante se cuantificó la concentración de IL-10 mediante la técnica de ELISA (kit comercial R&D Systems, Inc. Minneapolis, Minnesota, Estados Unidos, cat. núm. D1000). Se extrajo el ARN total de las PBMC y se amplificó el producto purificado con RT-PCR de un solo paso (kit comercial Access Quick™ RT-PCR System, cat. núm. A1720), utilizando un primer para IL-10 (Human IL-10 primer pair, Biosource) y uno para IL-1 β (Human IL-1 β primer pair, Biosource).

Resultados: la producción de IL-10 en las células mononucleares de sangre periférica estimuladas, en orden decreciente, fue: *Actinomadura madurae*, 43.7 pg/mL; *Candida albicans*, 38.3 pg/mL; *Nocardia brasiliensis*, 22.9 pg/mL; *Nocardia asteroides*; 20.4 pg/mL y *Madurella mycetomatis*, 19.4 pg/mL.

Conclusiones: la IL-10 en etapas avanzadas de infección por *Actinomadura madurae*, *Candida albicans*, *Nocardia brasiliensis*, *Nocardia asteroides* y *Madurella mycetomatis* ejerce un efecto antiinflamatorio e inmunomodulador, ya que impide la destrucción del microorganismo en células fagocíticas y facilita la cronicación de la infección.

Palabras clave: micetoma, *Actinomadura*, IL-10, IL-1 β .

ABSTRACT

Background: Mycetoma is a clinic syndrome consisting of inflammatory deforming, painless lesions and fistulae that affects cutaneous and subcutaneous tissues, aponeurosis and bone. It is a consequence of traumatic microorganisms' implantation from soil to the tissues. In 1962, Gonzalez-Ochoa observed that patients with actinomycetoma by *Nocardia brasiliensis* who experienced a positive skin reaction to nocardin or tuberculin had a good prognosis; meanwhile high antibody titles were associated to severe illness. Production of IL-1 and TNF by macrophages was inhibited by IL-10; this cytokine has anti-inflammatory action related to its ability to regulate the synergic proinflammatory activity of IL-1 and TNF, because these molecules amplify this response by the secondary induction of mediators as chemokines, prostaglandins and platelet activator factor (PAF).

Objective: To study the IL-10 and IL-1 β expression on human peripheral mononuclear blood cells (PBMC) stimulated *in vitro* with *Actinomadura madurae*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Candida albicans* and *Madurella mycetomatis* as mycetoma agents and correlate these findings to the IL-10 secreted.

Material and methods: PBMC were activated with *Actinomadura madurae*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Candida albicans* and *Madurella mycetomatis*. Supernatant IL-10 was measured by ELISA technique (R&D commercial kit, Inc. Minneapolis, MN, USA Cat D1000). Total RNA from cells was obtained, and amplification by one step RT-PCR was done (Access Quick™ RT-PCR System Cat A1720) using a primer for IL-10 (human IL-10 primer pair, Biosource) and another for IL-1 β (human IL-1 β primer pair, Biosource).

Results: production of IL-10 by PBMC stimulated in decreasing order was: *Actinomadura madurae*, 43.7 pg/mL; *Candida albicans*, 38.3 pg/mL; *Nocardia brasiliensis*, 22.9 pg/mL; *Nocardia asteroides*, 20.4 pg/mL and *Madurella mycetomatis*, 19.4 pg/mL.

Conclusion: In advanced stages on *Actinomadura madurae*, *Candida albicans*, *Nocardia brasiliensis*, *Nocardia asteroides* and *Madurella mycetomatis* infections, IL-10 produces anti-inflammatory and immunomodulator effects, because can avoid the destruction of these microorganisms in phagocytic cells, allows their survival inside these cells and favours the chronicity of the infection.

Key words: mycetoma, *Actinomadura*, IL-10, IL-1 β .

El micetoma es un síndrome clínico que consiste en la aparición de lesiones inflamatorias deformantes, no dolorosas, y fístulas en los tejidos cutáneo y subcutáneo, la aponeurosis y el hueso.¹ Por lo general, afecta los pies y las manos, así como las extremidades inferiores, que están expuestas directamente a la infección en 70 al 75% de los casos; sin embargo, puede manifestarse en casi cualquier región del cuerpo. Evolucionan de manera lenta, por lo que durante los primeros meses o años de su aparición es poco incapacitante. Las lesiones son abscesos pustulosos, granulomas y fístulas, así como granos característicos del agente causal. Entre estos agentes se encuentra una amplia variedad de bacterias (actinomicetomas) y hongos (eumicetomas).²

Durante mucho tiempo se han estudiado diferentes aspectos de la respuesta inmunitaria de pacientes con micetomas. En 1962, González Ochoa observó que los sujetos con actinomicetoma causado por *Nocardia brasiliensis* que mostraban una reacción positiva a la inoculación de nocardina o tuberculina tenían un buen pronóstico, mientras que los altos títulos de anticuerpos se vinculaban con una enfermedad más severa.³ En 1977, Mahgoub encontró resultados similares en pacientes africanos con eumicetomas y actinomicetomas.⁴

* Laboratorio de Inmunopotenciadores, Departamento de Sistemas Biológicos, UAM Xochimilco.

** Laboratorio de Micología, Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua, SSDF.

*** Laboratorio de Inmunología Celular, Departamento de Inmunología, Escuela Nacional de Ciencias Básicas, IPN.

Correspondencia: Dr. Alejandro Palma R. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Departamento de Sistemas Biológicos, Laboratorio de Inmunopotenciadores, Calzada del Hueso 1100, colonia Villa Quietud, CP 04960, México, DF. Correo electrónico: alpalma@correo.xoc.uam.mx

Recibido: agosto, 2008. Aceptado: septiembre, 2008.

Este artículo debe citarse como: Palma RA, Castrillón RLE, Ramos NEL, Padilla DC, Castro MME. Determinación de IL-10 a partir de células mononucleares humanas estimuladas *in vitro* con *Actinomadura madurae*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Candida albicans* y *Madurella mycetomatis*. *Dermatol Rev Mex* 2008;52(5):205-10.

La versión completa de este artículo también está disponible en: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

En diversos estudios se ha comprobado que la IL-10, producida principalmente por macrófagos activados, es un inhibidor de los mismos y, por lo tanto, interviene en el control homeostático de las reacciones de la inmunidad innata y de la celular, como un regulador de retroalimentación negativa. Los linfocitos también secretan IL-10. Los macrófagos responden a los microorganismos liberando citocinas y expresando coestimuladores que potencian la activación de las células T y la inmunidad celular; por su parte, la IL-10 actúa sobre los macrófagos activados para terminar estas respuestas y restablecer el estado de reposo del organismo una vez erradicada la infección microbiana.

Es importante recordar que las células T cooperadoras específicas del antígeno pueden dividirse en dos tipos, Th1 y Th2, según las citocinas que producen y su función efectora. La diferenciación a células Th1, que generan IL-2, INF- γ y linfotóxina, es estimulada por IL-12 y INF- γ , mientras que la diferenciación de células Th2, que originan IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, depende de IL-4. El INF- γ es representativo de las citocinas de tipo Th1 y un inhibidor del crecimiento de las células Th2, en tanto que la IL-10 es una citocina con actividad antiinflamatoria que inhibe a los macrófagos activados.⁵ La imagen histopatológica del micetoma es un granuloma crónico inespecífico que se desarrolla en la dermis, con hiperqueratosis variable, acantosis irregular e hiperplasia pseudoepitelomatosa. En la dermis superficial y profunda se aprecia un infiltrado granulomatoso con microabscesos de polimorfonucleares neutrófilos, acompañado de macrófagos, plasmocitos y linfocitos,⁶ razón por la cual es importante conocer la participación de la IL-10 y las células T_H2, en este síndrome crónico.

OBJETIVO

Estudiar la actividad de macrófagos y linfocitos T_H2 humanos productores de IL-10, estimulados *in vitro* con *Actinomadura madurae*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Candida albicans* y *Madurella mycetomatis*, que son agentes inductores de micetoma humano, mediante

el análisis de la expresión de IL-10 e IL-1 β (ARN mensajero), y la cuantificación de IL-10 en los sobrenadantes de cultivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Purificación de células mononucleares de sangre periférica

Se colectaron 20 mL de sangre periférica en tubos vacutainer con heparina de sodio (Becton Dickinson, San José, California) de voluntarios sanos, y se aislaron las células con gradiente de centrifugación de Histopaque[®]-1077 (Sigma, St Louis, Missouri); se resuspendieron en RPMI 1640 (GIBCO, Grand Island, Nueva York) suplementado con 10% de suero bovino fetal (FBS) (Hyclone Laboratorios, Logan, Utah) y 2 mM de glutamina, y se ajustaron a 1×10^6 cel/mL en cada pozo de una placa de 24 pozos.

Obtención del inóculo

Los microorganismos (*Actinomyces madurae*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Mycobacterium mycetomatis*) se cultivaron en medio agar dextrosa sabouraud a 37°C. Posteriormente, en solución salina estéril se ajustaron a una concentración de 300×10^6 UFC/mL, equivalente al tubo 1 del nefelómetro de Mac Farland.

Opsonización

Se tomó una alícuota de 1 mL de la suspensión microbiana y se centrifugó a 11,000 rpm en un tubo eppendorf. Después, se eliminó el sobrenadante para resuspenderla en 1 mL de suero humano sin descomplementar y se incubó durante una hora a 37°C.

Estimulación de las PBMC

A cada pozo con 1×10^6 cel/mL se le adicionaron 10×10^6 UFC/mL del microorganismo previamente opsonizado (*Actinomyces madurae*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Candida albicans* y *Mycobacterium mycetomatis*), y todos se incubaron en atmósfera de CO₂ a 37°C durante siete horas.

Cada hora durante el periodo de incubación se tomaron alícuotas de 100 μ L de los cultivos para centrifugarlas y cuantificar en el sobrenadante la concentración de IL-10 con la técnica inmunoenzimática de ELISA (kit comercial R&D Systems, Inc. Minneapolis, Minesota, Estados

Unidos, cat. núm. D1000). Se extrajo el ARN total de las PBMC y se amplificó el producto purificado con la técnica de RT-PCR de un solo paso (kit comercial Access Quick[®] RT-PCR System, cat. núm. A1720), utilizando un primer para IL-10 (Human IL-10 primer pair, Biosource) y otro para IL-1 β (Human IL-1 β primer pair, Biosource). Se tomó como testigo positivo la producción de IL-1 β por las células PBMC para compararla con la de IL-10.

RESULTADOS

En la figura 1 se observan las bandas características de 320 pb en el ADN a las siete horas de que se activaron las PBMC con *Candida albicans* y *Actinomyces madurae* para IL-1 β e IL-10, con una expresión de este último gen en aproximadamente 2 kb (hIL-10) (figura 2).⁷

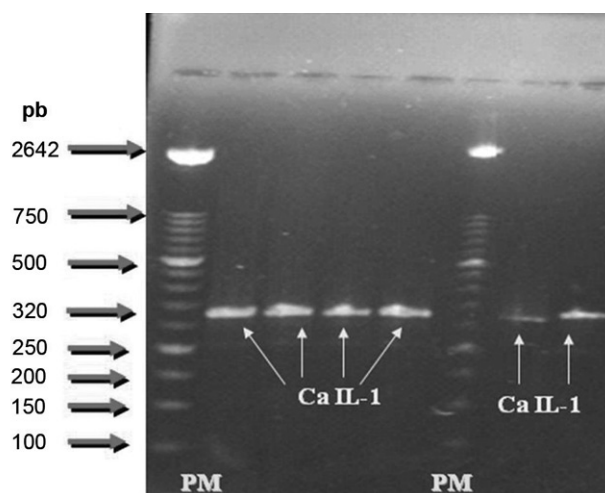


Figura 1. Activación de PBMC con *Candida albicans* (RT-PCR para IL-1 β).

En la estimulación de PBMC con *Candida albicans*, *Nocardia brasiliensis* y *Nocardia asteroides* se realizó el RT-PCR para IL-1 e IL-10 (figura 3). La expresión de las bandas para el ADN de IL-10 no fue notoria.

Se probó también la estimulación de las PBMC con *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis* y *Actinomyces madurae* para IL-1 β a las siete horas de activación. Las bandas (figura 4) indican la producción de ARNm para IL-1 β en todos los casos.

Se cuantificó IL-10 en los sobrenadantes de las PBMC activadas por *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Actinomyces madurae*, *Candida albicans* y *Mycobacterium*

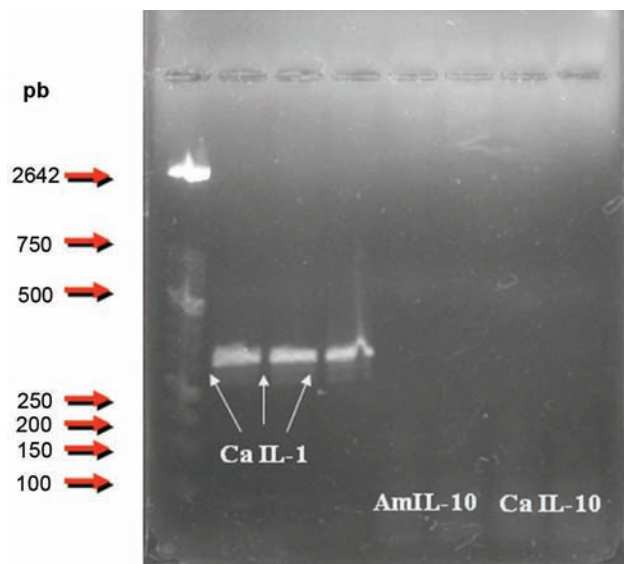


Figura 2. Activación de PBMC con *Candida albicans* y *Actinomyadura madurae*, RT-PCR para IL-1β e IL-10.

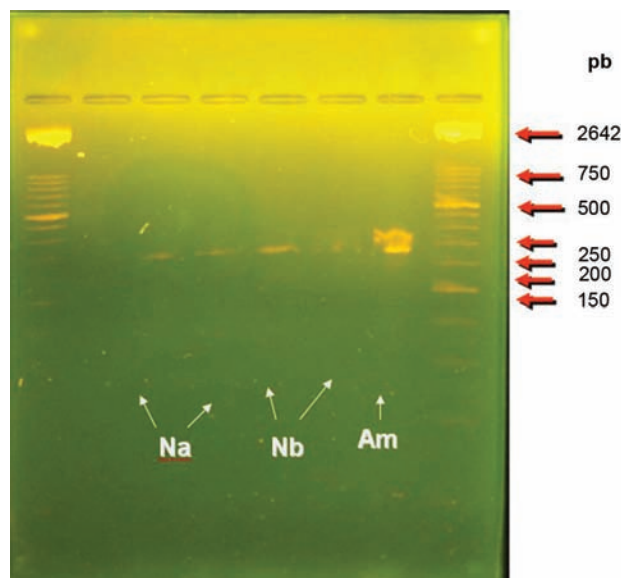


Figura 4. IL-1β en mononucleares activados con *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis* y *Actinomadura madurae*.

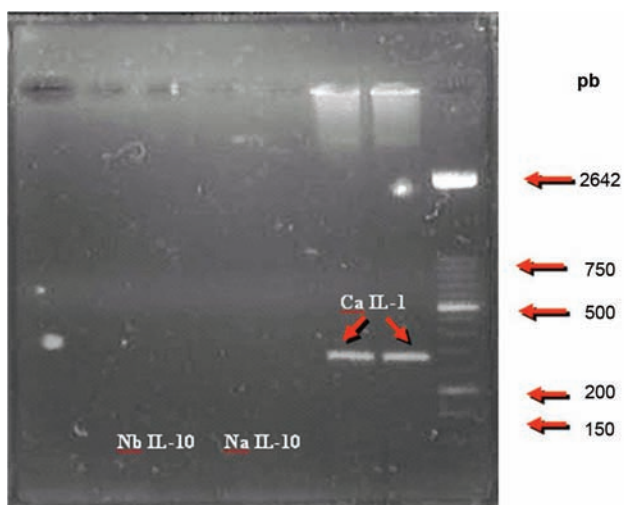


Figura 3. Activación de células mononucleares por *Candida albicans*, *Nocardia brasiliensis* y *Nocardia asteroides*, RT-PCR para IL-1 e IL-10.

mycetomatis, en diferentes periodos comprendidos entre una y siete horas por la técnica de ELISA (cuadro 1). Se comprobó que a partir de las cuatro horas comenzó a incrementarse la IL-10 y que alcanzó la concentración máxima, en todos los casos, a las siete horas.

Los agentes usados para estimular las células que produjeron IL-10 fueron, en orden de mayor a menor concentración: *Actinomadura madurae*, *Candida albicans*,

Nocardia brasiliensis, *Nocardia asteroides* y *Madurella mycetomatis* (cuadro 1).

DISCUSIÓN

La IL-10 modula la expresión de citocinas, mediadores solubles y moléculas de superficie celular –lo que tiene importantes consecuencias en su habilidad para activar y sostener las respuestas inmunitaria e inflamatoria–, inhibe la producción de IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, TNF, LIF y PAF por monocitos activados/macrófagos,⁸ así como la producción de quimiocinas (CC y CXC) como IL-8, IP-10, MIP-2, KC (Gro-a) por monocitos activados.^{9,10} Estas quimiocinas están implicadas en el reclutamiento de monocitos, células dendríticas, neutrófilos y células T.

De esta manera, la IL-10 impide la expresión de muchas quimiocinas inducibles que intervienen en la inflamación, aumentando la producción del receptor antagonista para la IL-1 (IL-1RA) y los receptores solubles del TNFR p55 y p75;^{11,12} también inhibe la expresión de IL-1RI e IL-1RII en monocitos activados, lo que indica que la IL-10 no sólo desactiva monocitos, sino que induce la creación de moléculas antiinflamatorias.^{13,14}

Además de esto, la IL-10 también evita la generación de prostaglandinas E2 (PGE2), con lo que se reduce la expresión de ciclooxigenasa 2 (COX-2)¹⁵ y de antígenos

Cuadro 1. Concentración por hora de IL-10 en pg/mL, en PBMC estimuladas con *Actinomadura madurae*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Candida albicans* y *Madurella mycetomatis*, después de siete horas de activación

Hora	<i>C. albicans</i>	<i>Madurella</i>	<i>N. asteroides</i>	<i>N. brasiliensis</i>	<i>A. madurae</i>
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1	0.0	0.0	7.62	0.0	0.0
2	0.0	0.0	6.25	3.96	3.96
3	0.0	8.53	9.45	3.12	6.25
4	4.11	5.03	11.13	8.07	7.47
5	12.13	14.09	17.4	13.84	12.80
6	18.07	19.73	18.07	24.56	26.21
7	38.32	19.47	20.44	22.98	43.77

MHC de clase II, CD54 (ICAM-1), CD80 (B7) y CD86 (B7-2) en los monocitos, incluso después de que IL-4 o IFN γ hayan inducido su creación;^{16,17} además, impide la producción de IL-12 y la expresión de moléculas coestimuladoras para varios tipos de células dendríticas.¹⁸

Tanto LPS, LPS más IFN γ , como las levaduras opsonizadas o la fracción manoproteica de *Candida albicans* instigan la producción de TNF, IL-1 α/β , IL-8, IL-12p40, GRO α , MIP1 α/β , MIG, ITAC e IP10 por neutrófilos, mientras que la IL-10 la inhibe;¹⁹ sin embargo, *in vivo* suprime la muerte de bacterias fagocitadas y aumenta la supervivencia en modelos murinos con infecciones por *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Mycobacterium avium*.²⁰

El sistema inmunitario del huésped infectado responde con suficiente intensidad para que se pueda controlar y eliminar la infección, al tiempo que minimiza el daño al tejido. La IL-10 juega un papel central en el estricto equilibrio entre la protección y la enfermedad (figura 5).

La respuesta típica a una infección por bacterias, hongos o protozoarios patógenos puede expresarse como una secuencia de distintas interacciones intracelulares:

- Reconocimiento del microbio o productos microbianos por macrófagos, polimorfonucleares neutrófilos o células dendríticas.
- Identificación de estructuras microbianas para la generación de citocinas, esencialmente IL-12, IL-8, TNF e IL-1 por macrófagos y monocitos.
- Producción de IFN γ por las células NK, que inducen múltiples funciones microbicidas en los macrófagos, como la fagocitosis, y la generación de óxido nítrico y reactivos intermediarios del oxígeno.
- Respuesta de las células T a antígenos microbianos en un medio ambiente dominado por esta serie de

citocinas, esencialmente la IL-12 y el IFN γ , preferentemente diferenciando a células Th1.

- Aumento considerable de IFN γ y TNF por las células Th1, potenciando la especificidad y la memoria.

La IL-10 inhibe muchas de las etapas en esta vía de inmunidad antimicrobiana (figura 5).

En este estudio se encontró IL-10 a las siete horas de activación de las células mononucleares humanas provenientes de voluntarios sanos con *Actinomadura madurae*, *Candida albicans*, *Nocardia brasiliensis*, *Nocardia asteroides* y *Madurella mycetomatis*. Asimismo, se observó que disminuyó la concentración de IL-1 y aumentó la de IL-10 durante el proceso infeccioso, como un mecanismo regulador de la respuesta inmunitaria *in vitro* y en las células.

La producción de IL-10 en las células infectadas, en orden decreciente, fue: *Actinomadura madurae*, 43.7 pg/mL; *Candida albicans*, 38.3 pg/mL; *Nocardia brasiliensis*, 22.9 pg/mL, *Nocardia asteroides*, 20.4 pg/mL y *Madurella mycetomatis*, 19.4 pg/mL.

El TNF y la IL-1 juegan un papel central en la iniciación y la propagación de la respuesta inflamatoria. Los efectos inhibitorios de la IL-10 sobre la producción de citocinas proinflamatorias y la fisiología de diferentes tipos de células, en lo individual, sugieren que ésta podría tener una potente actividad antiinflamatoria *in vivo*, en infecciones por estos microorganismos.

CONCLUSIÓN

La IL-10 en etapas avanzadas de infecciones por *Actinomadura madurae*, *Candida albicans*, *Nocardia brasiliensis*, *Nocardia asteroides* y *Madurella mycetomatis* tiene un

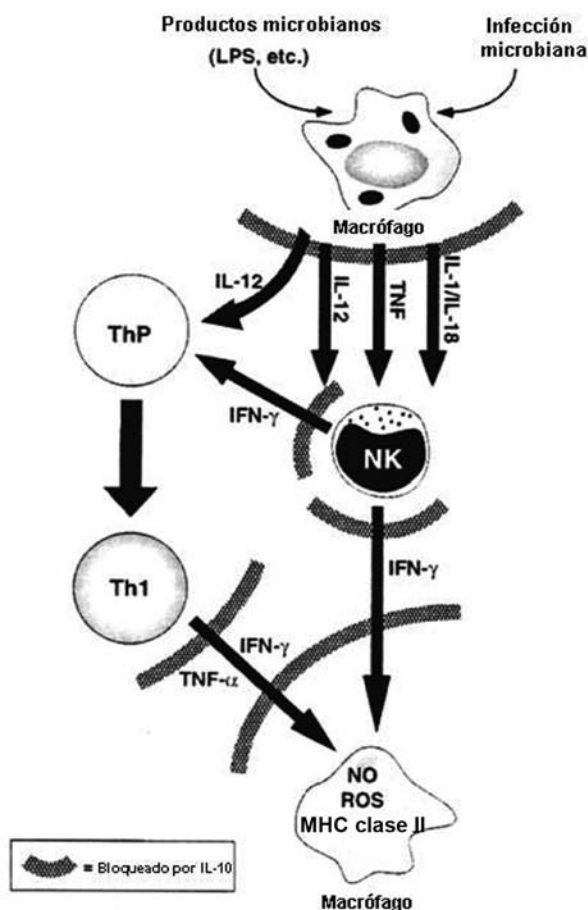


Figura 5. Esquema descriptivo de los papeles que juega la IL-10 en la inhibición de las respuestas inmunitarias innata y adaptativa en una infección.

efecto antiinflamatorio e inmunomodulador que puede impedir la destrucción del microorganismo en las células fagocíticas y facilitar la cronificación de la infección.

REFERENCIAS

1. González OA. Mycetoma. In: Cañizares O, editor. Clinical tropical dermatology. Oxford: Blackwell Scientific, 1975;pp:24-29.
2. Magaña M. Mycetoma. Int J Dermatol 1984;23(4):221-36.
3. González-Ochoa A, Shibayama H, Félix D, Anaya M. Immunological aspects of actinomycotic micetoma and nocardiosis. Proceedings of XII International Congress Dermatology of Washington, 1962;pp:542-51.
4. Mahgoub ES, Gumma SA, El Hassan AM. Immunological status of micetoma patients. Bull Soc Pathol Exot 1977;70:48-53.

5. Sasaki S, Nishikawa S, Miura T, Mizuki M, et al. Interleukin-4 and interleukin-10 are involved in host resistance to *Staphylococcus aureus* infection through regulation of Gamma interferon. Infect Immun 2000;68(5):2424-30.
6. Rippon WJ. Micología médica. Hongos y actinomicetos patógenos. 3ª ed. México: Interamericana, 1990;pp:91-132.
7. Vieira P, de Waal-Malefyt R, Dang MN, Johnson KE, et al. Isolation and expression of human cytokine synthesis inhibitory factor (CSIF/IL 10) cDNA clones: homology to Epstein-Barr virus open reading frame BCRF1. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:1172-6.
8. de Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor C, de Vries J. IL-10 inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. J Exp Med 1991;174:1209-20.
9. Parrish-Novak J, Xu W, Brender T Yao L, et al. Interleukins 19, 20 and 24 signal through two distinct receptor complexes. Differences in receptor-ligand interactions. J Biol Chem 2002;277:47517-23.
10. Blumberg H, Conklin D, Xu WF, Grossmann A, et al. Interleukin 20: discovery, receptor identification, and role in epidermal function. Cell 2001;104:9-19.
11. Kotenko SV, Izotova LS, Mirochnitchenko OV, Esterova E, et al. Identification of the functional interleukin-22 (IL-22) receptor complex: the IL-10R2 chain (IL-10Rb) is a common chain of both the IL-10 and IL-22 (IL-10-related T cell-derived inducible factor, IL-TIF) receptor complexes. J Biol Chem 2001;276:2725-32.
12. Wei CC, Ho TW, Liang WG, Chen GY, Chang MS. Cloning and characterization of mouse IL-22 binding protein. Genes Immun 2003;4:204-11.
13. McLane MP, Haczk A, van de Rijn M, Weiss C, et al. Interleukin-9 promotes allergen-induced eosinophilic inflammation and airway hyperresponsiveness in transgenic mice. Am J Respir Cell Mol Biol 1998;19:713-20.
14. Cookson W. The alliance of genes and environment in asthma and allergy. Nature 1999;402:B5-11.
15. Niuro H, Otsuka T, Kuga S, Nemoto Y, et al. IL-10 inhibits prostaglandin E2 production by lipopolysaccharide-stimulated monocytes. Int Immunol 1994;6:661-4.
16. Ding L, Linsley PS, Huang LY, Germain RN, Shevach EM. IL-10 inhibits macrophage co-stimulatory activity by selectively inhibiting the up-regulation of B7 expression. J Immunol 1993;151:1224-34.
17. Kubin M, Kamoun M, Trinchieri G. Interleukin-12 synergizes with B7/CD28 interaction in inducing efficient proliferation and cytokine production by human T cells. J Exp Med 1994;180:263-74.
18. Macatonia SE, Doherty TM, Knight SC, O'Garra A. Differential effect of interleukin 10 on dendritic cell-induced T cell proliferation and IFN-g production. J Immunol 1993;150:3755-65.
19. Cassatella MA, Meda L, Bonora S, Ceska M, Constantin G. Interleukin 10 (IL-10) inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leukocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and IL-1 beta in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide. J Exp Med 1993;178:2207-11.
20. Ghadirian DM. IL-10 neutralization augments mouse resistance to systemic *Mycobacterium avium* infections. J Immunol 1993;151:5425-30.