

図 2

RT-PCR 法による SS および正常唾液腺におけるサイトカイン mRNA の発現頻度。  
 Normal:n=4, SS(Focus score 1≤ and <2):n=8, SS(Focus score 2≤ and <6):n=6,  
 SS(Focus score 6≤):n=6.



a



b

図 3

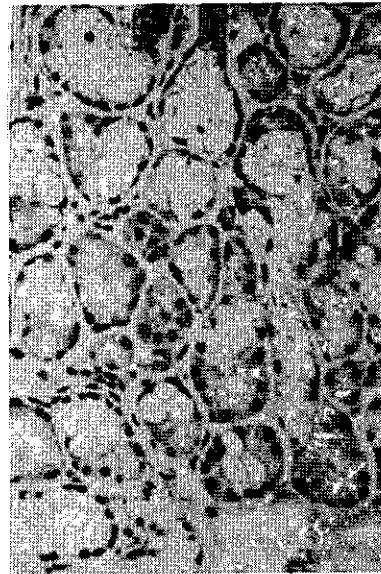
SS 唾液腺における TGFβ の免疫染色組織所見。(a)Focus score=1.2。(b)Focus score=12.



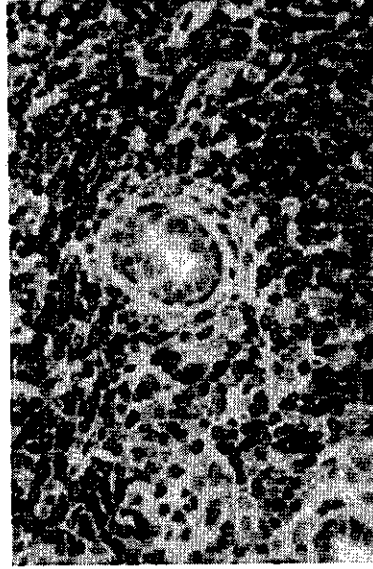
a



b

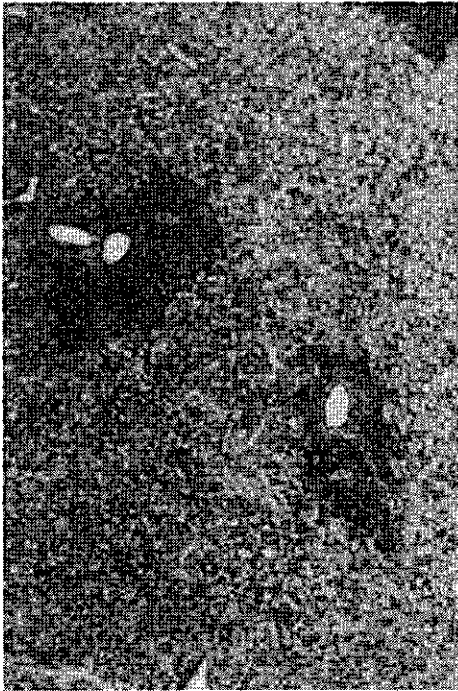


c

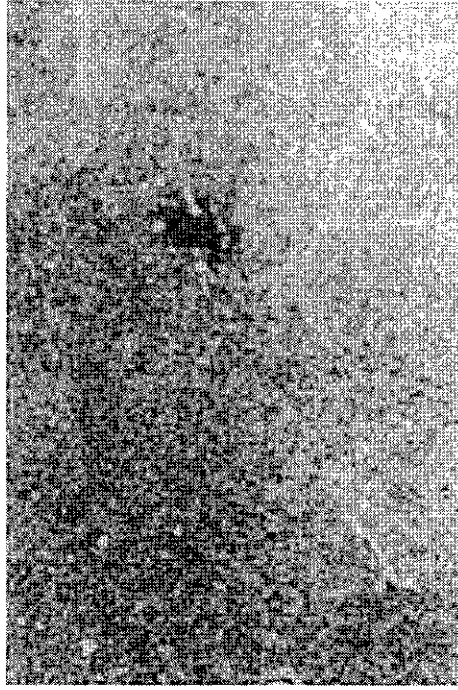


d

図4  
免疫染色組織所見。(a)SS唾液腺におけるFasの発現。(b)SS唾液腺におけるFasLの発現。  
(c)SS唾液腺におけるBaxの発現。(d)SS唾液腺におけるBcl-2の発現。



a



b

図5 NZB/W F1 マウスにおける(a)抗 CD40L 抗体投与群と(b)対照群の28週令の唾液腺における光学顕微鏡所見 (HE 染色、40倍)。

# シェーグレン症候群 (SS) 唾液腺障害、特に唾液腺房および導管上皮細胞 アポトーシスの制御機構の検討

研究協力者：江口勝美  
(長崎大学医学部第一内科)

## 研究要旨

唾液腺腺房および導管上皮細胞のアポトーシスによる細胞死は SS の口腔乾燥症状を引き起こす一要因と考えられており<sup>(1, 2)</sup>、その機序の解明は特異的な治療法の開発につながると思われる。そこでヒト唾液腺細胞株を用いて検討したが、同細胞株は TNF- $\alpha$  および IFN- $\gamma$  によりアポトーシスが誘導され、この細胞株の Fas 依存性アポトーシスも TNF- $\alpha$  および IFN- $\gamma$  により増強された。TNF- $\alpha$  および IFN- $\gamma$  は唾液腺細胞株の抗アポトーシス分子の発現を抑制しこれら細胞株のアポトーシスを誘導することが示唆され、今後はアポトーシス制御分子をターゲットとした SS の治療法の開発が期待される。

## A. 研究目的

SS唾液腺組織の腺房細胞や導管上皮細胞には Fas の発現が認められ、また、TUNEL 陽性のアポトーシス像も検出される。一方、SS唾液腺局所に侵潤している活性化リンパ球には FasL の発現が認められる<sup>(1, 2)</sup>。種々のサイトカインの発現も SS 唾液腺局所には認められるが、特に TNF- $\alpha$  や IFN- $\gamma$  はヒト唾液腺細胞株にアポトーシスを誘導すると報告される。以上のことより、SS の唾液腺組織障害の進展へのアポトーシスの関与が強く示唆されるが、今回、SS 唾液腺腺房および導管上皮細胞アポトーシスの制御機構の検討、特に TNF- $\alpha$  および IFN- $\gamma$  によるヒト唾液腺細胞株のアポトーシスの誘導機構について検討した。

## B. 研究方法

1. ヒト唾液腺細胞株としては HSG 細胞を用い、以下の実験に使用した。
2. HSG 細胞を TNF- $\alpha$  (200 IU/ml) および IFN- $\gamma$  (500 IU/ml) の存在・非存在下で培養しアポトーシスを誘導した。一部の実験では抗 Fas 抗体 (1  $\mu$ g/ml) を加えてアポトーシスを誘導した。
3. アポトーシスは a. Propidium iodide 染色による Hypodiploid DNA 陽性細胞 (DNA fragmentation) の検出 b. DiOC6 を用いたミトコンドリア膜電位低下の検討 c. DEVD 基質を用いた caspase-3 酵素活性の検出にて評価した。a-c は flow cytometric analysis にて検討した。
4. HSG 細胞の XIAP および Bcl-2 の発現は各々の蛋白に対する monoclonal antibody を用い、Western blotting にて解析した。

## C. 研究結果

### 1. TNF- $\alpha$ および IFN- $\gamma$ による HSG 細胞のアポトーシスの誘導

図 1 に示すように無刺激 HSG 細胞には有意なアポトーシスは、DNA fragmentation、caspase-3 酵素活性の上昇、およびミトコンドリア膜電位の低下はすべて認められなかったが、TNF- $\alpha$  および IFN- $\gamma$  の添加により HSG 細胞には経時的に有意にアポトーシスが誘導され、これら 3 種類のアポトーシスの指標の上昇が認められた。また、HSG 細胞のアポトーシスは、TNF- $\alpha$  および IFN- $\gamma$  により相乗的に増強された (図 2)。

### 2. Caspase 阻害剤による HSG 細胞アポトーシスの抑制効果

Caspase 阻害剤である Z-VAD-CH<sub>2</sub>DCB を用いると、図 3 に示すように TNF- $\alpha$  で誘導される HSG 細胞のアポトーシスは、DNA fragmentation、caspase-3 酵素活性の上昇、およびミトコンドリア膜電位の低下のすべてがほぼ抑制された。一方、IFN- $\gamma$  で誘導される HSG 細胞のアポトーシスは、Z-VAD-CH<sub>2</sub>DCB により DNA fragmentation と caspase-3 酵素活性の上昇は抑制されたが、ミトコンドリア膜電位の低下は抑制されなかった (図 3)。TNF- $\alpha$  と IFN- $\gamma$  共存下で誘導される HSG 細胞のアポトーシスは、Z-VAD-CH<sub>2</sub>DCB 添加により DNA fragmentation と caspase-3 酵素活性の上昇は抑制されたが、ミトコンドリア膜電位の低下の抑制は部分的な抑制に留まった (図 3)。

### 3. HSG 細胞 Fas 依存性アポトーシスへの TNF- $\alpha$ および IFN- $\gamma$ の影響

抗 Fas 抗体添加により HSG 細胞にはアポトーシスが誘導され、DNA fragmentation、caspase-3 酵素活性の上昇、およびミトコンドリア膜電位の低下が認められた (図 4)。この現象は TNF- $\alpha$  および IFN- $\gamma$  により増強された (図 4)。

### 4. HSG 細胞の XIAP および Bcl-2 発現の検討

図 5 に示すように XIAP および Bcl-2 の発現は無刺激 HSG 細胞に認められた。TNF- $\alpha$  および IFN- $\gamma$  添加により HSG 細胞の XIAP と Bcl-2 の発現は経時的に抑制された。

## D. 考察

SS 唾液腺腺房細胞および導管上皮細胞のアポトーシス誘導機序の解明は特異的な治療法の開発にもつながると考えられる。SS 唾液腺局所の腺房細胞や導管上皮細胞にはアポトーシス受容体である Fas の発現が認められ<sup>(1)</sup>、また、細胞機能を修飾する種々のサイトカインの発現も以前より報告されている。アポトーシスの誘導は種々の遺伝子産物の相互作用により調節されているが<sup>(3-6)</sup>、私たちはヒト唾液腺細胞株である HSG 細胞を用いて TNF- $\alpha$  および IFN- $\gamma$  による同細胞のアポトーシス誘導機序を本研究で検討した。

HSG 細胞はこれらサイトカイン刺激により抗アポトーシス作用を有する XIAP や Bcl-2 の発現が抑制されアポトーシスが誘導されたが、このアポトーシスは TNF- $\alpha$  と IFN- $\gamma$  により相乗的に増強された。しかしながら、TNF- $\alpha$  と IFN- $\gamma$  のアポトーシスの誘導機序には相違が認められ、TNF- $\alpha$  で誘導

されるアポトーシスは caspases 阻害剤により DNA fragmentation、caspase-3 酵素活性の上昇、およびミトコンドリア膜電位の低下のすべてが抑制されたが、IFN- $\gamma$ で誘導されるアポトーシスはこれらの中でミトコンドリア膜電位の低下が抑制されなかった。このことは TNF- $\alpha$  刺激は、activator caspase (caspase-8?) がミトコンドリア機能障害を誘導し HSG 細胞のアポトーシスを誘導するが、IFN- $\gamma$ 刺激によるミトコンドリア機能障害は caspase-8等の activator caspase を介していないことを示唆する。これに加えて HSG 細胞の Fas 依存性アポトーシスも TNF- $\alpha$  や IFN- $\gamma$ により増強された。

SS 唾液腺局所には FasL 陽性の活性化リンパ球の浸潤が認められ、これら細胞による腺房細胞および導管上皮細胞の Fas 依存性アポトーシスの誘導機序も類推されており<sup>(1)</sup>、このことから SS 唾液腺破壊に関するサイトカインの重要性が示唆される。今後はこれらサイトカインで誘導される HSG 細胞のアポトーシスへの、XIAP や Bcl-2 の作用機序の詳細を解明する予定である。

#### E. 結論

SS 唾液腺組織障害へのサイトカイン、およびそれで誘導される唾液腺腺房細胞および導管上皮細胞のアポトーシスの重要性が示唆された。これらサイトカインで誘導される唾液腺組織細胞のアポトーシスは抗アポトーシス分子の発現低下を介して惹起されることが考えられ、その調節機序の詳細の解明は、SS に対する特異的な治療法の開発につながることを期待される。

#### F. 参考文献

1. Nakamura, H., Koji, T., Tominaga, M., Kawakami, A., Migita, K., Kawabe, Y., Nakamura, T., Shirabe, S., Eguchi, K.: Apoptosis in labial salivary glands from Sjogren's syndrome patients-comparison with the HTLV-I-seronegative and -seropositive Sjogren's syndrome patients. Clin. Exp. Immunol. 1998, 114: 1, 106-112.
2. Nakamura, H., Kawakami, A., Tominaga, M., Migita, K., Kawabe, Y., Nakamura, T., Eguchi, K.: Expression of CD40/CD40 ligand and Bcl-2 family proteins in labial salivary glands of patients with Sjogren's syndrome. Lab. Invest. 1999, 79: 3, 261-269.
3. Kawakami, A., Nakashima, T., Tsuboi, M., Urayama, S., Matsuoka, M., Ida, H., Kawabe, Y., Sakai, H., Migita, K., Aoyagi, T., Nakashima, M., Maeda, K., Eguchi, K.: Insulin-like growth factor I stimulates proliferation and Fas-mediated apoptosis of human osteoblasts. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1998, 247: 1, 46-51.
4. Kawakami, A., Nakashima, T., Sakai, H., Hida, A., Urayama, S., Yamasaki, S., Nakamura, H., Ida, H., Ichinose, Y., Aoyagi, T., Furuichi, I., Nakashima, M., Migita, K., Kawabe, Y., Eguchi, K.: Regulation of synovial cell apoptosis by proteasome inhibitor. Arthritis Rheum. 1999, 42: 11, 2440-2448.
5. Kawakami, A., Nakashima, T., Sakai, H., Urayama, S., Yamasaki, S., Hida, A., Tsuboi, M., Nakamura, H., Ida, H., Migita, K., Kawabe, Y., Eguchi, K.: Inhibition of caspase cascade by HTLV-I Tax through induction of NF- $\kappa$ B nuclear translocation. Blood 1999, 94: 11, 3847-3854.

図 1 TNF- $\alpha$ およびIFN- $\gamma$ によるHSG細胞のアポトーシスの誘導  
B: Caspase-3 activity の検討

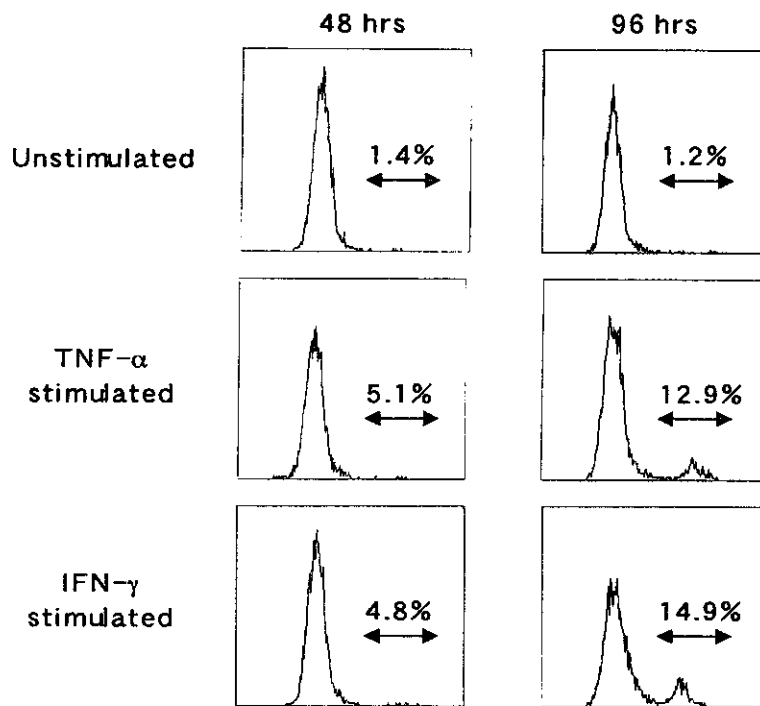


図 1 TNF- $\alpha$ およびIFN- $\gamma$ によるHSG細胞のアポトーシスの誘導  
C: Mitochondrial membrane potential の検討

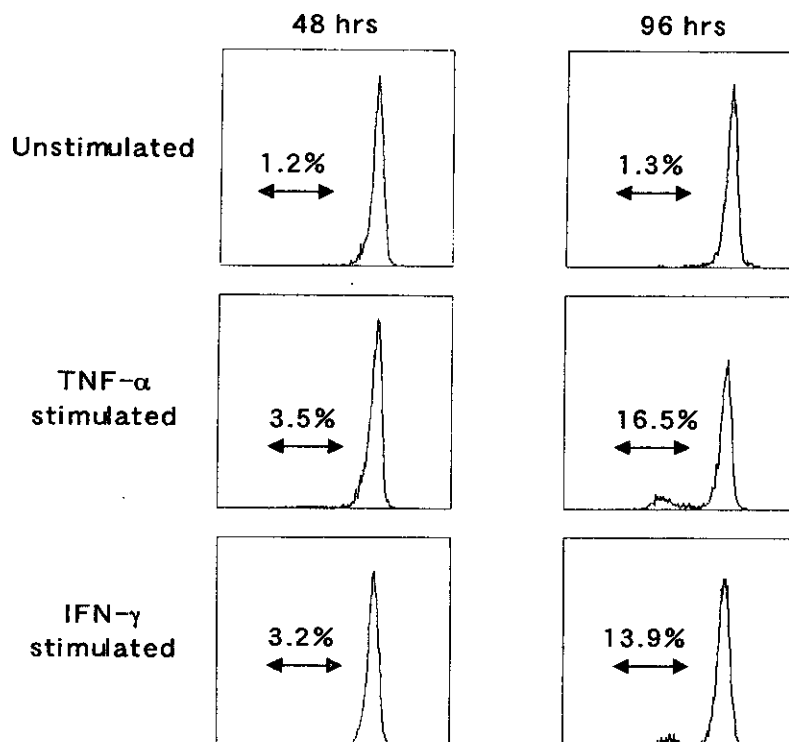


図2 HSG細胞アポトーシス誘導へのTNF- $\alpha$  とIFN- $\gamma$ の相乗効果の検討

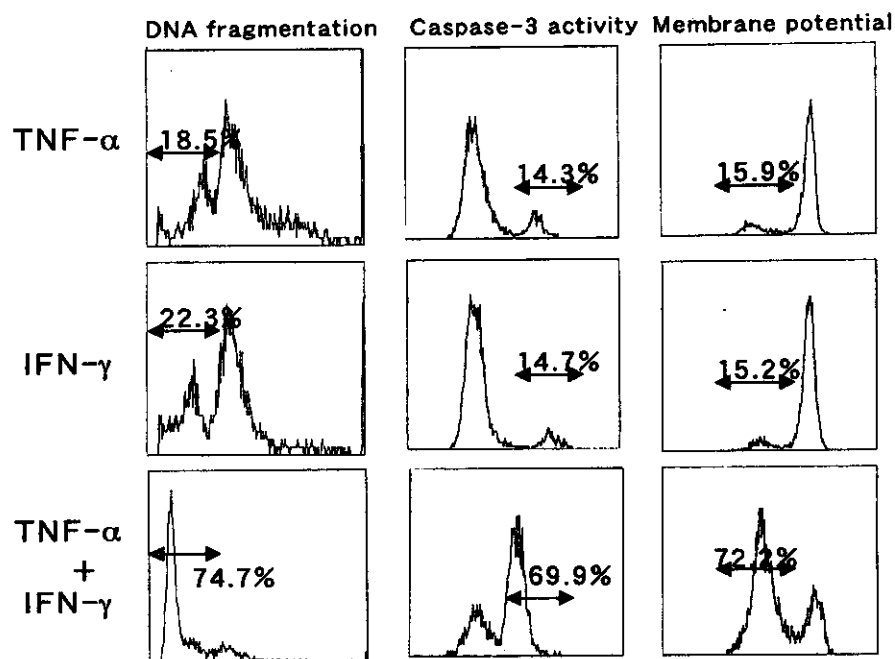


図3 Caspase 阻害剤によるHSG 細胞アポトーシスの抑制効果  
A: TNF- $\alpha$ 誘導性アポトーシス

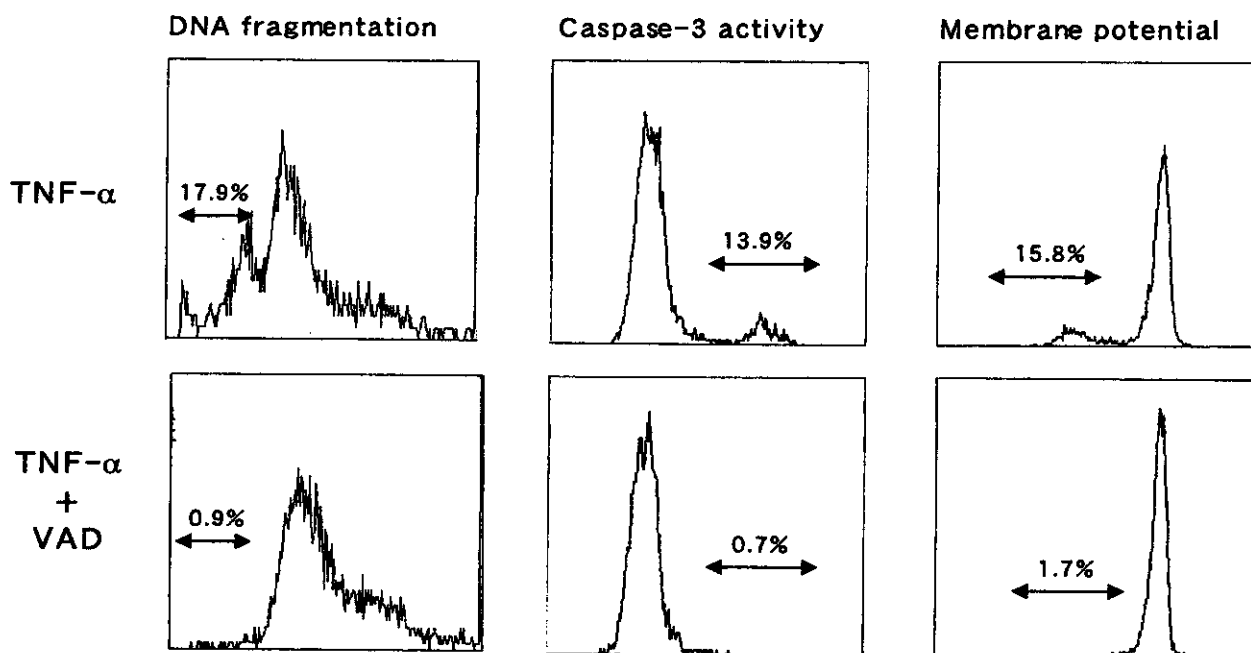




図3 Caspase 阻害剤によるHSG 細胞アポトーシスの抑制効果  
B: IFN- $\gamma$ 誘導性アポトーシス

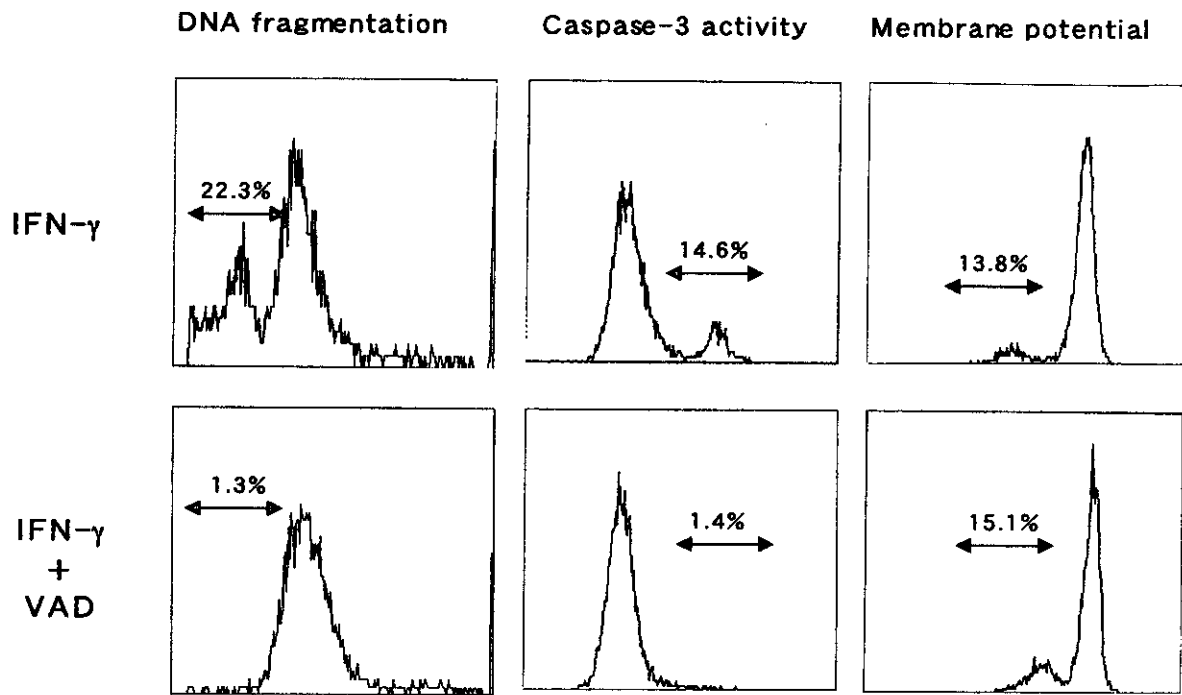


図3 Caspase 阻害剤によるHSG 細胞アポトーシスの抑制効果  
C: TNF- $\alpha$ とIFN- $\gamma$ 共存下で誘導されるアポトーシス

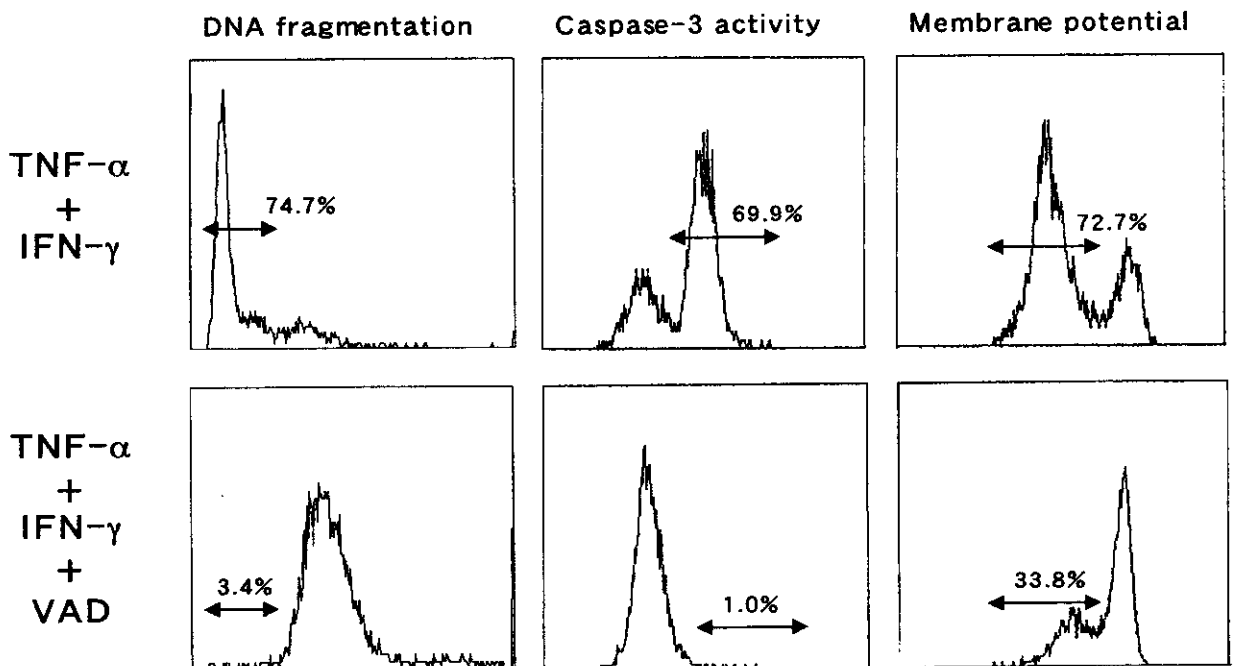


図4 HSG細胞Fas依存性アポトーシスへのTNF- $\alpha$ とIFN- $\gamma$ の影響

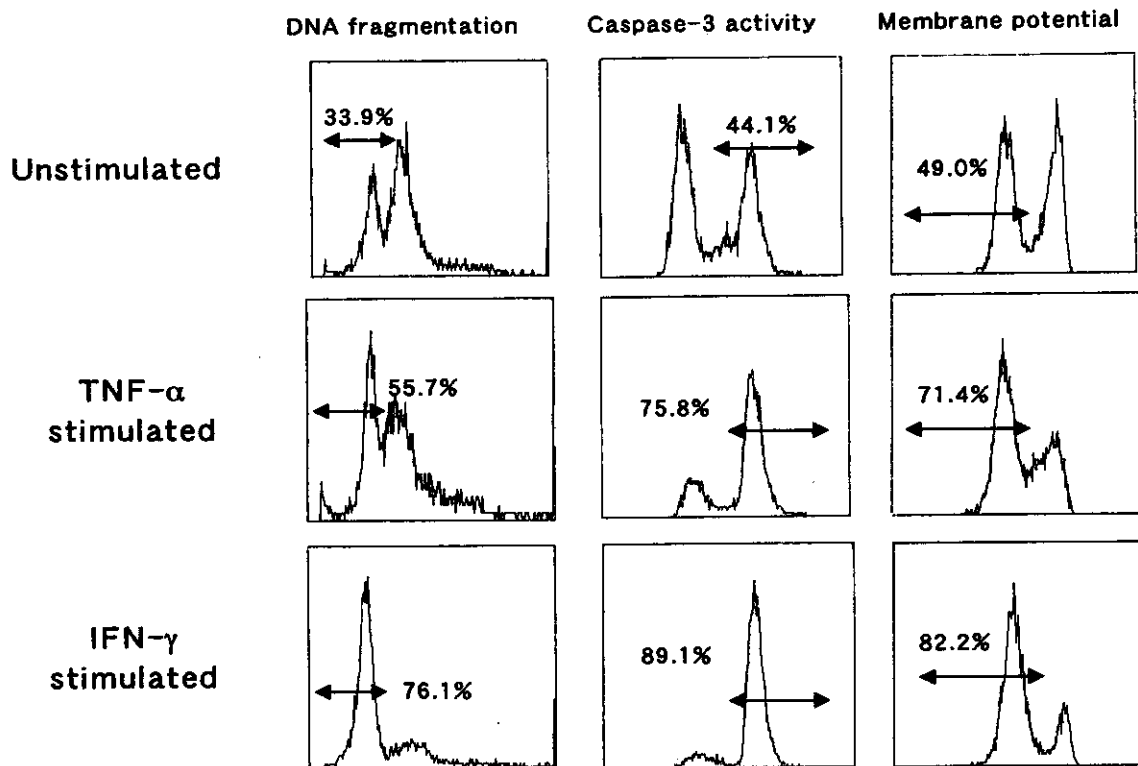
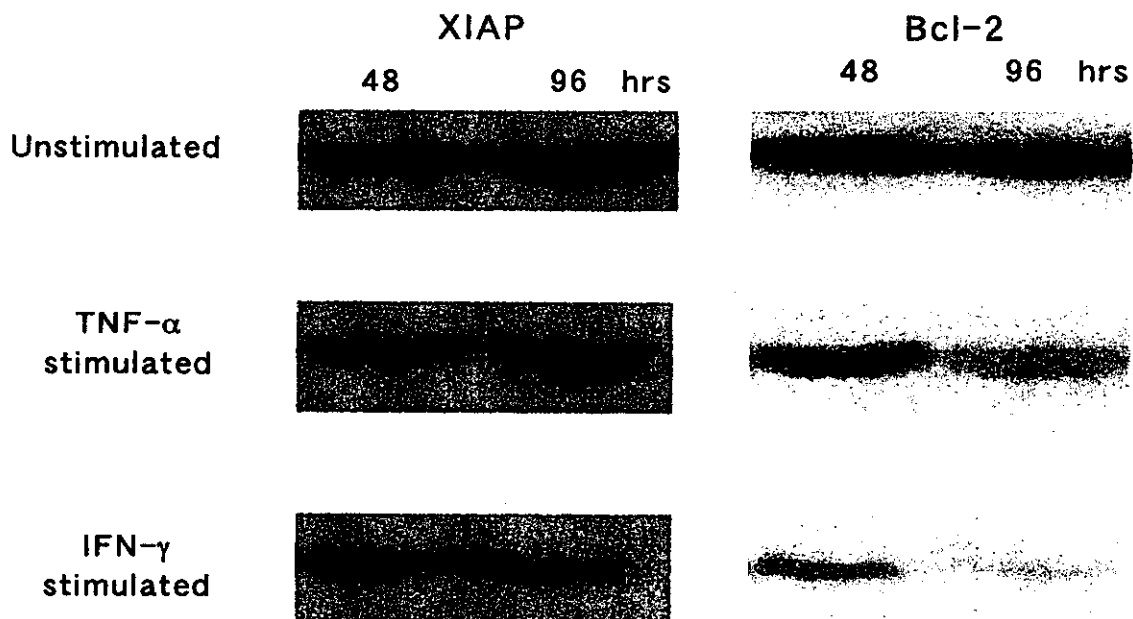


図5 HSG細胞のXIAPおよびBcl-2発現の検討



## 新しい免疫抑制剤 FTY720 経口投与による自己免疫モデルマウスの治療の試み

研究協力者： 簗田清次  
(自治医科大学、アレルギー膠原病科)

### 研究要旨

自己免疫疾患の代表的な治療薬である副腎皮質ステロイド薬はその免疫抑制機序の一つとしてアポトーシス誘導作用を有する。リンパ球のアポトーシス誘導作用を有し、グルココルチコイド作用のない物質は全身性エリテマトーデス (SLE) の治療に有望であると考えられる。そのような物質として、アポトーシスを引き起こす細胞表面抗原 Fas の細胞内シグナル伝達物質の一つであるセラミドとセラミド様作用を有する新しい免疫抑制剤 FTY720 に着目し、Fas 欠損 MRL-lpr/lpr ループスモデルマウスに対する経口投与実験を遂行した。両者共に腎炎の軽減、自己抗体の産生低下、寿命の延長など治療効果を認めた。

今回は直接 Fas 分子には異常を認めないループスモデルである NZB/W マウスを用いて、FTY720 が治療効果を示すかどうか、すなわち治療を一般化できるか否かを検討した。

既に自己免疫病を発症している生後 8 ヶ月齢の NZB/WF1 マウス計 45 匹をコントロール群、FTY720 投与群 (2mg/kg)、副腎皮質ステロイド投与群 (2mg/kg) の 3 群に分け、週 3 回経口投与した。FTY720 投与群では生存率の上昇 (13 ヶ月齢 66.7% vs コントロール群 25.0%)、腹腔内 CD5<sup>+</sup> B 細胞数の減少 ( $0.2 \times 10^7$  vs コントロール群  $1.0 \times 10^7$ )、経時的な血清抗 ds-DNA 抗体価の低下とさらに蛍光免疫組織学的検査で腎糸球体への IgG 沈着の減少とが観察された。

FTY720 は NZB/WF1 ループスマウスに対しても治療効果を有し、SLE に対する新しい治療法となりうる事が示された。将来的にヒト SLE に対する臨床応用が期待される。

### A. 研究目的

自己免疫疾患の代表的な治療薬である副腎皮質ステロイド薬はその免疫抑制機序の一つとしてアポトーシス誘導作用を有する。リンパ球のアポトーシス誘導作用を有し、グルココルチコイド作用のない物質は全身性エリテマトーデス (SLE) の治療に有望であると考えられる。そのような物質として、

アポトーシスを引き起こす細胞表面抗原 Fas の細胞内シグナル伝達物質の一つであるセラミドとセラミド様作用を有する新しい免疫抑制剤 FTY720 に着目し、Fas 欠損 MRL-lpr/lpr ループスモデルマウスに対する経口投与実験を遂行した。両者共に腎炎の軽減、自己抗体の産生低下、寿命の延長など治療効果を認めた。

今回は直接 Fas 分子には異常を認めないループスモデルである NZB/W マウスを用

いて、FTY720 が治療効果を示すかどうか、すなわち治療を一般化できるか否かを検討した。

既に自己免疫病を発症している生後 8 ヶ月齢の NZB/WF1 マウス計 45 匹をコントロール群、FTY720 投与群 (2mg/kg)、副腎皮質ステロイド投与群 (2mg/kg) の 3 群に分け、週 3 回経口投与した。FTY720 投与群では生存率の上昇 (13 ヶ月齢 66.7% vs コントロール群 25.0%)、腹腔内 CD5<sup>+</sup>B 細胞数の減少 ( $0.2 \times 10^7$  vs コントロール群  $1.0 \times 10^7$ )、経時的な血清抗 ds-DNA 抗体価の低下とさらに蛍光免疫組織学的検査で腎糸球体への IgG 沈着の減少とが観察された。FTY720 は NZB/WF1 ループスマウスに対しても治療効果を有し、SLE に対する新しい治療法となりうることを示された。将来的にヒト SLE に対する臨床応用が期待される。

## B. 研究方法

既に自己免疫病を発症している生後 8 ヶ月齢の NZB/WF1 マウス計 45 匹をコントロール (非投与) 群、FTY720 投与群 (2mg/kg)、副腎皮質ステロイド薬 (メチルプレドニゾン) 投与群 (2mg/kg) の 3 群に分け、週 3 回経口投与した。治療効果判定は、生存率、血清抗 ds-DNA 抗体価、腹腔内 CD5<sup>+</sup>B 細胞数、腎臓の蛍光免疫組織学的検査を指標とした。

## C. 研究結果

1) 生存率 (図 1) : FTY720 投与群ではコントロール群と比べて、有意に (13 ヶ月齢 66.7% vs コントロール群 25.0%  $p < 0.05$ ) 生存率の増加を認めた。尚メチルプレドニゾン投与群とは有意差はなかった。

2) 血清抗 ds-DNA 抗体価 (図 2) : 経時的に血清抗 ds-DNA 抗体価を測定したところ、FTY720 投与群ではコントロール群と比べて、有意に (13 ヶ月齢 平均 213.3U/ml vs コントロール群 509.1U/ml  $p < 0.05$ ) 抗体価の減少が観察された。

3) 腹腔内 CD5<sup>+</sup>B 細胞数 (図 3) : 13 ヶ月齢の腹腔細胞の CD5 と B220 との FACS-can を用いた two-color 解析結果では、FTY720 投与群では CD5<sup>+</sup>B 細胞の比率が、コントロール群さらにステロイド投与群よりも著明に低下していた。

4) 腎臓の蛍光免疫組織学的所見 (図 4) : FTY720 投与群ではコントロール群と比べて、明らかに IgG 沈着の減少が観察された。

肝機能の推移 (図 5) : FTY720 投与中の副作用の発現については、抗 Fas 抗体を用いた治療実験では劇症肝炎の報告<sup>6)</sup>があるが、FTY720 投与群では肝機能の異常変動は観察されなかった。尚、結果は示さないが、骨髄抑制やメチルプレドニゾン投与群で認められた耐糖能異常は示さず、安全性の高い免疫抑制剤と考えられた

## D. 考察

FTY720 は MRL-lpr/lpr だけでなく、NZB/W F1 ループスマウスに対しても、腹腔内 CD5<sup>+</sup>B 細胞の減少と抗 ds-DNA 抗体価の減少を介し、ループス腎炎を軽減させ、治療効果を示したと考えられた。安全性に関しても、検索した範囲では肝機能障害、骨髄抑制、耐糖能異常は認められなかった。以上から FTY720 は SLE に対する新しい治療法となりうることを示された。

## E. 結論

FTY720 は将来的にヒト SLE に対する臨床応用が期待される。

## F. 参考文献

- 1) Cifone, M.G., Migliorati, G., Parroni, R., Marchetti, C., Millimaggi, D., Santoni, A., Riccardi, C. : Dexamethasone-induced thymocyte apoptosis. *Blood*. 1999, 93:7, 2282-2296.
- 2) Kroemer, G. : The pharmacology of T cell apoptosis. *Adv Immunol*. 1995, 58: 211-296.
- 3) Cifone, M.G., Maria, R.D., Roncaioli, P., Rippo, M.R., Azuma, M., Lanier, L., Santoni, A., Testi, R. : Apoptosis signaling through CD95 (Fas/Apo-1) activates an acidic sphingomyelinase. *J Exp Med*. 1993, 177: 1547-1552.
- 4) Fujita, T., Yoneta, M., Hirose, R., Sasaki, S., Inoue, K., Kiuchi, M., Hirase, S., Adachi, K., Arita, M., Chiba, K. : Simple compounds, 2-alkyl-2-amino-1,3-propanediols have potent immunosuppressive activity. *Bioorg Med Chem* 1995, 5:847-852.
- 5) Okazaki, H., Hirata, D., Kamimura, T., Sato, H., Kano, S., Minota, S. : Therapeutic effects of C2-ceramide and FTY720 on the clinical course of MRL-lpr/lpr mice. *Arthritis Rheum*. 1998, 41:9, S175.
- 6) Ogasawara, J., Watanabe-Fukunaga, R., Adachi, M., Matsuzawa, A., Kasugai, T., Kitamura, Y., Itoh, N., Suda, T., Nagata, S. : Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature*. 1993, 364: 806-809. *J Clin Invest* 100:1363-72, 1997.

図1. NZB/W F1に対するFTY720投与による生存率の推移

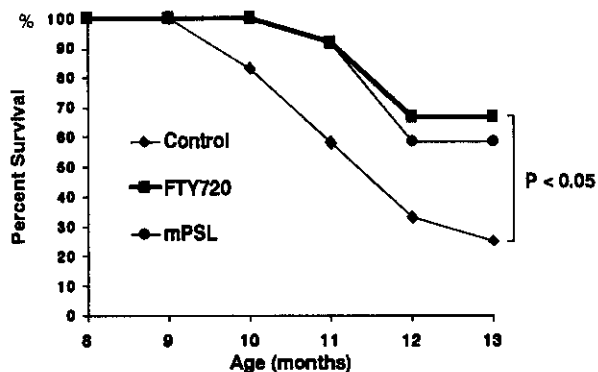


図2. 抗dsDNA抗体価の推移

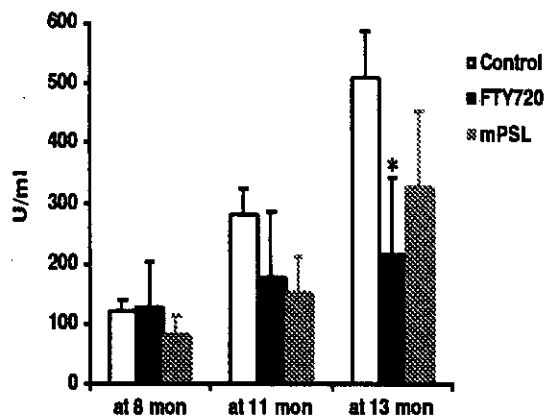


図3. 腹腔内CD5+ B細胞数の変化

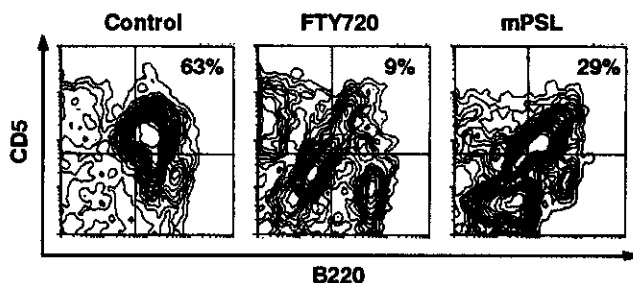
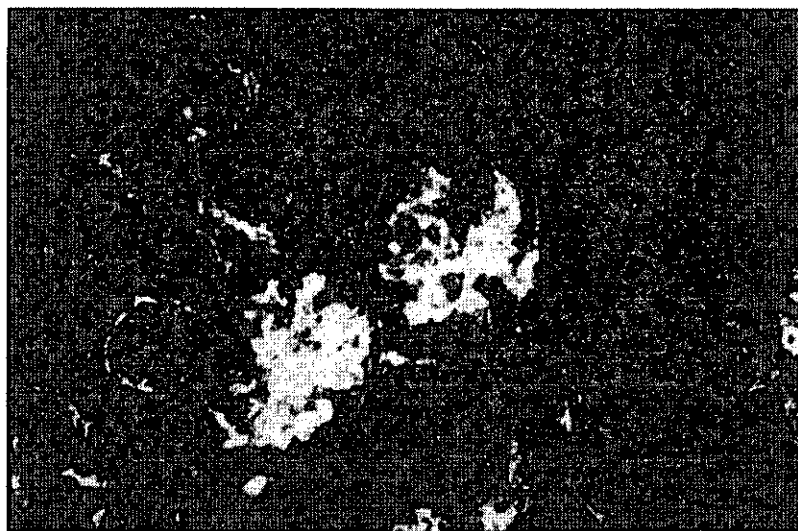


図5. 肝機能の推移

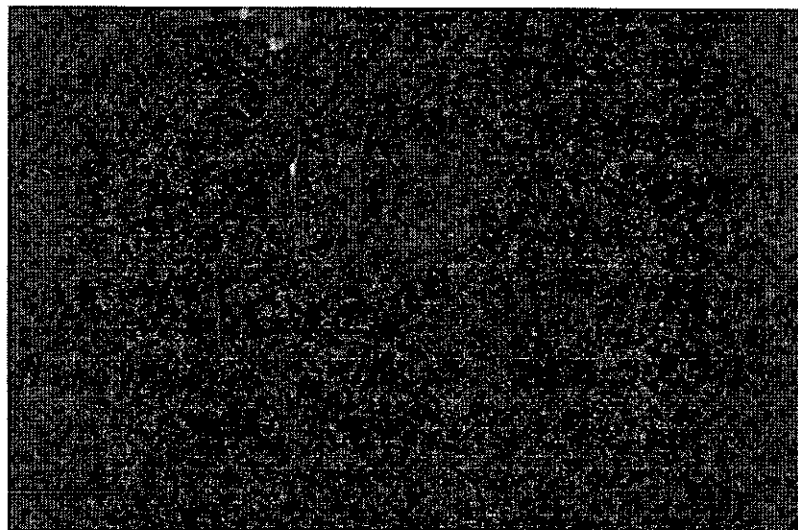
	8	9	10	11	12	13 (mon)
FTY720 2 mg/kg, 3 times a week, p.o						
U/ml (SD)						
GOT	128 (40)		114 (33)			138 (45)
GPT	45 (5)		52 (8)			49 (6)
ALP	433 (187)		331 (70)			492 (181)
LDH	3697 (524)		4238 (375)			4001 (698)

図4. ステロイドおよびFTY720によるループス腎炎の治療効果

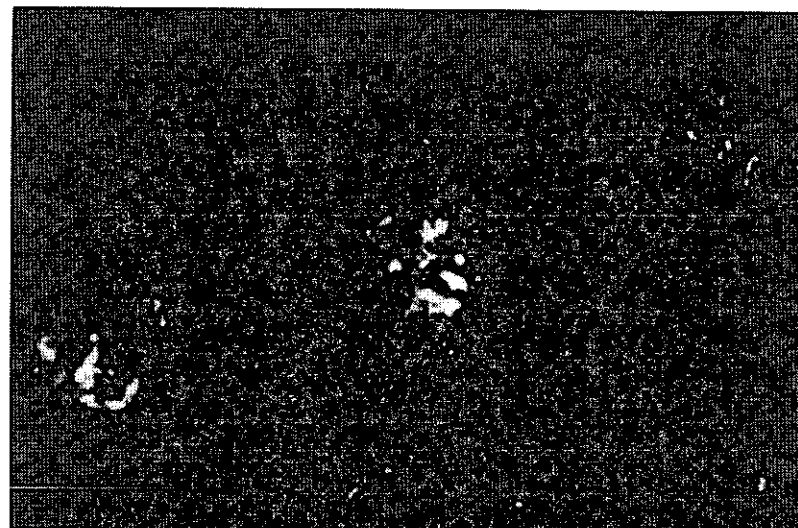
Control



FTY720



mPSL



## 間質性肺炎繊維化における IL-6 の関与の解析

分担研究者： 西本憲弘  
(大阪大学健康体育部健康医学第一部門)

### 研究要旨

間質性肺炎は膠原病患者の予後に大きな影響を与える合併症の1つであるが、その発生機序は明らかではない。TGF- $\beta$ と IL-6 の遺伝子をそれぞれラット肺組織に発現をさせた実験から、TGF- $\beta$ は間質性肺炎の線維化に関与し IL-6 はリンパ球を中心とした炎症性細胞浸潤に関与することが示唆された。また高 IL-6 血症を特徴とする plasma cell 型キャスルマン病はリンパ球浸潤を特徴とするリンパ球性間質性肺炎(LIP)様肺病変を約 80%と高頻度に伴うが肺繊維化は起こしにくい。これらの事実から膠原病疾患における間質性肺炎において繊維化を起こすといわれている代表的なサイトカインである TGF- $\beta$ の作用と IL-6 の作用は異なると考えられる。そこで、実際の間質性肺炎の臨床病態における TGF- $\beta$ , IL-6 の役割を明らかにするため、肺繊維化型間質性肺炎を合併した慢性関節リウマチ(RA)、多発性筋炎/皮膚筋炎(PM/DM)、強皮症(PSS)、混合性結合病(MCTD)と LIP を合併したキャスルマン病患者血清中 TGF- $\beta$ および IL-6、また間質性肺炎活動性のマーカーとして KL-6 を測定した。両群ともに TGF- $\beta$ に有意な上昇は認めなかった。

しかし、繊維化を伴わない間質性肺病変合併患者では IL-6 は有意に高いが KL-6 は正常域にあり、一方、繊維化を伴う間質性肺炎では KL-6 は高値を示したが IL-6 は前者に比べ低値を示した。したがって IL-6 は肺の繊維化に対し抑制的に働くか、直接的な関与をしない可能性がある。

### A. 研究目的

間質性肺炎は膠原病患者の予後に大きな影響を与える合併症の一つであるが、その発生機序は明らかではない。我々は、TGF- $\beta$ と IL-6・IL-6R の遺伝子をそれぞれ Adenovirus vector 法ならびに Adenovirus vector HVJ-liposome 法を用いてマウス肺組織に強制発現させた実験で、TGF- $\beta$ 遺伝子発現は強い線維化を伴った間質性肺炎を誘導したが IL-6・IL-6R 遺伝子を導入した場合は主にリンパ球及び単球を中心とした炎症性細胞浸潤を特徴と

する間質性肺炎を引き起こすが繊維化は生じないことを明らかにした<sup>(1)</sup> (Fig. 1, Fig. 2 参照)。このことは、間質性肺炎の病態においてサイトカインのバランス異常が大きな役割をなすことを示唆する。また高 IL-6 血症を特徴とする plasma cell 型キャスルマン病はリンパ球浸潤を特徴とする LIP 型間質性肺炎のを約 80%と高頻度に伴うが肺繊維化は起こしにくいことを報告した<sup>(2)</sup>。また IL-6 は可溶性 IL-6 受容体の存在下で線維芽細胞の増殖を抑制することが明らかになった<sup>(3)</sup>。これらの事実から膠原病疾患における間質性肺炎において、繊維化を起



こすといわれている代表的なサイトカインである TGF- $\beta$  の作用と IL-6 の作用は拮抗するのではないかという仮説をたてた。

本年度は、実際の間質性肺炎の臨床病態における TGF- $\beta$ 、IL-6 の役割を明らかにするため、肺繊維化型間質性肺炎を合併した慢性関節リウマチ(RA)、多発性筋炎/皮膚筋炎(PM/DM)、強皮症(PSS)、混合性結合病(MCTD)と LIP を合併しやすいキャスルマン病患者血清中 TGF- $\beta$  および IL-6、同時に間質性肺炎活動性のマーカーとして KL-6 を測定し間質性肺炎病態における TGF- $\beta$  と IL-6 の意義を検討した。

## B. 研究方法・結果・考察

LIP を合併したキャスルマン病ならびに肺線維化を伴った膠原病患者の血清中 IL-6、TGF- $\beta$ 、KL-6 を測定した。LIP 型肺病変を有するキャスルマン病と他の繊維化型間質性肺炎を合併する膠原病患者の血清 TGF- $\beta$  は共に正常範囲内またはそれ以下であり、両者間で有意な差を認めなかった( $p=0.6919$ )(Fig. 3)。しかしながら IL-6 はキャスルマン病の患者では肺線維化を伴った膠原病患者よりも高値を示し( $p<0.005$ )(Fig. 4)、しかもキャスルマン病患者の KL-6 は正常範囲であった。一方繊維化型の間質性肺炎を合併した膠原病患者では一部の症例で IL-6 が上昇傾向を示したが健常人と比べ有意差はなく、逆に KL-6 は正常値よりも高い値をとるものが多くキャスルマン病の患者よりも有意に高値( $p<0.05$ )を示した(Fig. 5)。キャスルマン病患者では 20~30 mg/日のプレドニンを使用しており、繊維化型間質性肺炎合併膠原病患者におけるステロイド使用量に比べ多く、ステロイド治療による影響とは

考えにくい。以上のことから繊維化を来さない間質性肺炎では IL-6 の産生亢進が認められた。

また、すでに我々が報告しているように IL-6 は可溶性 IL-6 受容体の存在下で RA 患者由来滑膜線維芽細胞の増殖を抑制する。したがって、IL-6 は間質性肺炎の繊維化を直接的に抑制するか、繊維化には全く関係しないという可能性が示唆された。

間質性肺炎の繊維化に TGF- $\beta$  が関与するのは種々の報告で明らかで、この TGF- $\beta$  の働きを抑制するサイトカインの報告もなされている。その一例として IFN- $\gamma$  が知られている。その抑制の細胞内機構として、最近 IFN- $\gamma$  刺激により Jak-Stat 系を介して TGF- $\beta$  の細胞内シグナル伝達の negative feedback 因子である Smad7 が誘導され TGF- $\beta$  細胞内シグナル伝達系を抑制すると報告された<sup>(4)</sup>。また間質性肺炎の治療に少量のステロイドと IFN- $\gamma$  が有効であるという報告とも一致する<sup>(5)</sup>。IL-6 も IFN- $\gamma$  と同様に Jak-Stat 系のシグナル伝達系を有す。従って、TGF- $\beta$  のシグナルによる繊維化現象に対し、IL-6 刺激が低下している場合は、Jak/STAT 系のシグナルが低下し同時に Smad7 の発現低下のため、間接的に TGF- $\beta$  刺激が高まり繊維化が増強されると予想される。逆に IL-6 刺激が高い場合は、Jak/STAT 系のシグナル伝達が高まり Smad7 の発現増強が生じ、TGF- $\beta$  刺激によるシグナル伝達を抑制し繊維化の低下または抑制が生じると考えられる。更に、Jak-Stat シグナル伝達系による誘導因子として、我々は IL-6 の細胞内シグナル伝達系の Jak-Stat 系の negative feedback 因子 Socs-1/Jab/SSI-1 を単離同定したが、Socs-1/Jab/SSI-1 は IFN- $\gamma$  でも細胞内シグナル伝達の negative feedback 因子であることが報告されている。この Socs-

1/Jab/SSI-1 は、恒常的に発現した場合 Jak-Stat 系を抑制することより、Jak-Stat 系を介して誘導される Smad7 の発現を抑え、TGF- $\beta$ の細胞内シグナル伝達が相対的に強くなりより繊維化を来たしやすくなることが予想される。逆に SOCS-1/Jab/SSI-1 の発現低下した場合は Jak/STAT 系及び Smad7 の発現増強のため、TGF- $\beta$ シグナルの相対的低下により繊維化抑制すると考えられる。

#### C. 結論

今回の線維化を伴わない間質性肺炎を有するキャッスルマン病ならびに肺線維化を伴った間質性肺炎を有する膠原病患者の血清中サイトカインの測定にて IL-6 は肺の繊維化を抑制するか、あるいは全く関係しないという可能性が示唆された。

#### D. 参考文献

1. Yoshida M, Sakuma J, Hayashi S, Abe K, Saito I, Harada S, Sakatani M, Yamamoto S, Matsumoto N, Kaneda Y, Kishimoto T. A histologically distinctive interstitial pneumonia induced by overexpression of the interleukin 6, transforming growth factor beta 1, or platelet-derived growth factor B gene. Proc Natl Acad Sci U S A 1995; 92(21): 9570-4.
2. Johkoh T, Muller NL, Ichikado K, Nishimoto N, Yoshizaki K, Honda O, Tomiyama N, Naitoh H, Nakamura H, Yamamoto S. Intrathoracic multicentric Castleman disease: CT findings in 12 patients. Radiology 1998; 209(2): 477-81.
3. Nishimoto N, Ito A, Ono M, Tagoh H, Matsumoto T, Tomita T, Ochi T, Yoshizaki K. IL-6 inhibits the proliferation of fibroblastic synovial cells from rheumatoid arthritis patients in the presence of soluble IL-6 receptor [In

Process Citation]. Int Immunol 2000 Feb; 12(2): 187-93.

4. Ulloa L, Doody J, Massague J. Inhibition of transforming growth factor-beta/SMAD signalling by the interferon-gamma/STAT pathway. Nature.1999 ; 397(6721) : 710-3.
5. Ziesche R, Hofbauer E, Wittmann K, Petkov V, Block LH. A preliminary study of long-term treatment with interferon gamma-1b and low-dose prednisolone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. N Engl J Med 1999; 341(17): 1264-9.

**Fig. 1 Histopathologic change observed in the rat lungs 3 days after IL-6 and/or IL-6R gene introduction by Adenoviral vector**

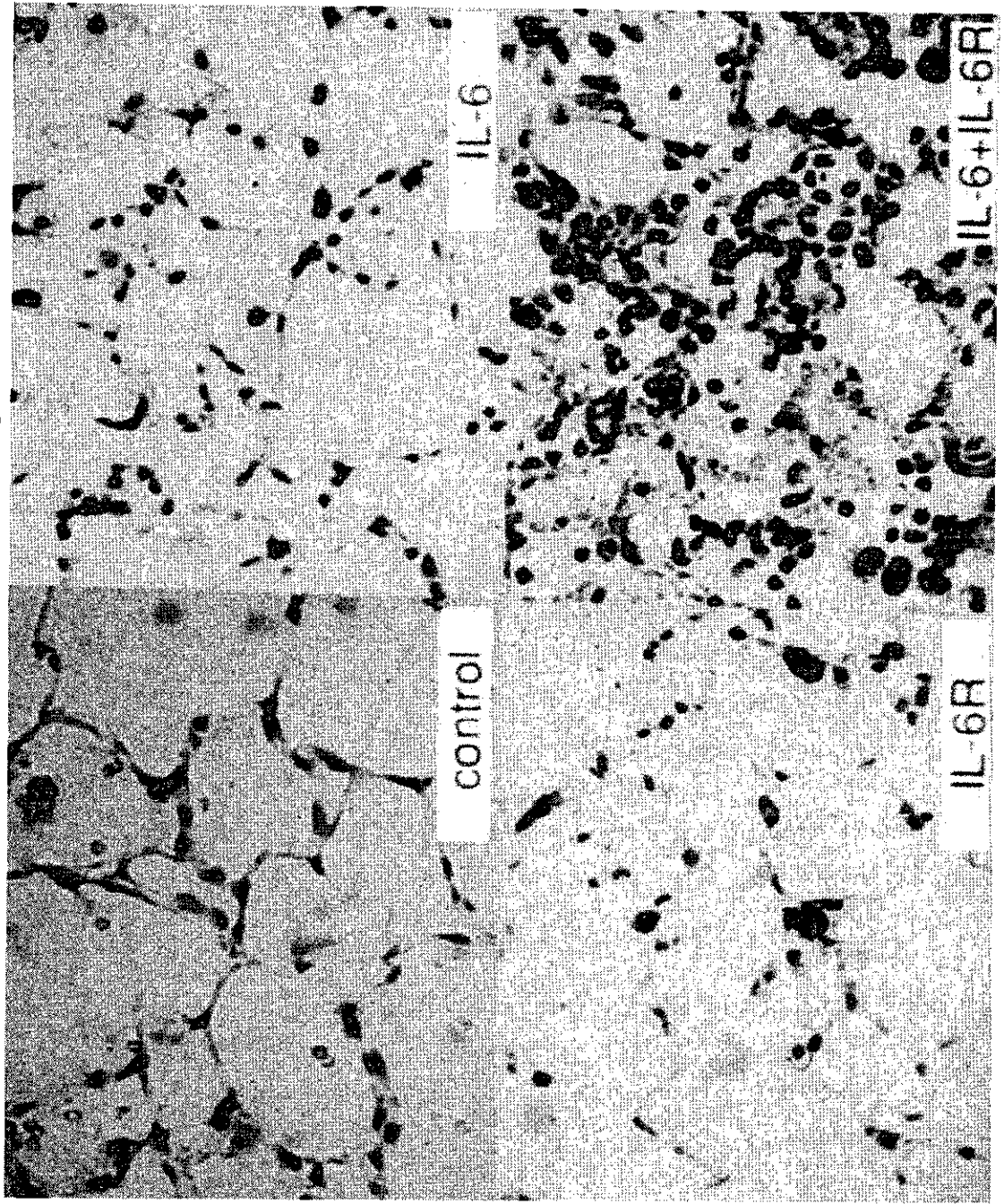


Fig. 2 Histopathologic changed observed in the rat lungs 14 days after TGF- $\beta$ 1 gene introduction by HVJ-liposome

