山岸 茂夫

大西 正樹

Ruby Pawankar

鼻粘膜上皮細胞が産生する IL-1 α と TNF- α の自己誘導による IL-6, IL-8, GM-CSF 産生への影響

日本医科大学耳鼻咽喉科学教室

鼻粘膜上皮細胞から産生される IL-1 α , TNF- α が, IL-6, IL-8, GM-CSF の産生にどのような影響を与えるか, 中和抗体 (抗 IL-1 α 抗体, 抗 TNF- α 抗体) を用いて検討した。アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜上皮細胞を培養し抗 IL-1 α 抗体, 抗 TNF- α 抗体をそれぞれ (0.1ng-1000ng) を加え48時間後の培養上清中の IL-6, IL-8, GM-CSF を ELISA にて測定した。無添加と比して抗 IL-1 α 抗体添加で IL-6 の産生量の最大抑制率は, 76.3 $\pm$ 6.2%, IL-8 は55.2 $\pm$ 8.7%, GM-CSF は69.3 $\pm$ 4.9%であり有意差を認めた。無添加と比して抗 TNF- α 抗体添加で IL-6 の産生量の最大抑制率は, 53.0 $\pm$ 12.3%, IL-8 は42.9 $\pm$ 13.0%, GM-CSF は42.1 $\pm$ 11.5%であり有意差を認めた。また, 抗 IL-1 α 抗体添加は抗 TNF- α 抗体添加に比して有意に IL-6, GM-CSF の産生を抑制した。

抗 IL-1R 抗体および抗 TNF- α R 抗体を用いて flow cytometry にて培養鼻粘膜上皮細胞に発現している IL-1 α R, TNF- α R を確認した。鼻粘膜上皮細胞から産生される IL-1 α , TNF- α は, それ自身のレセプターに働き鼻粘膜上皮細胞の IL-6, IL-8, GM-CSF の産生の増強に作用し, その作用は IL-1 α でより強いと考えられた。

キーワード: 鼻アレルギー, 鼻粘膜上皮細胞, 自己誘導機構, IL-1 α , TNF- α

はじめに

鼻アレルギー患者鼻粘膜上皮層内には多数の肥満細胞, 好酸球, リンパ球, 好中球が存在しアレルギー発症に重要な役割を果たしている¹⁾²⁾。しかし, それら細胞の集積メカニズムはいまだ不明な点が多い。近年種々のサイトカインがその役割の一端を担っていることが報告されており³⁾⁴⁾, さらに鼻粘膜上皮細胞が支持細胞として鼻アレルギー反応の場を提供するだけでなく IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8, GM-CSF を産生していることが報告されている⁴⁾⁵⁾¹²⁾。これら鼻粘膜上皮細胞からのサイトカイン産生がどのような機構で制御されているかを明らかにすることは, 上皮層内の細胞集積機構を解明するうえで重要である。Cromwell ら¹²⁾ は, IL-1, TNF- α が気管支上皮細胞の IL-6, IL-8, GM-CSF 等サイトカイン産生を増強させることを報告した。今回我々は, 鼻粘膜上皮細胞自身が IL-1, TNF- α を産生していることから, それらが鼻粘膜上皮細胞の IL-6, IL-8, GM-CSF 産生に影響を与える自己誘導の可能性について中和抗体を用いて検討した。

対 象

鼻アレルギー患者 (問診, 誘発テスト, RAST でハウスダストもしくはスギ陽性) 12名の鼻粘膜上皮細胞を用いた。12名の内訳は, 男性5名, 女性7名 (平均年齢32歳) である。

方 法

1. 鼻粘膜上皮細胞の培養

1) 細胞分離

手術で得られたアレルギー患者下鼻甲介粘膜を1% penicillin-streptomycin (GIBCO, Long Island, NY), 10⁻⁵M 2-mercaptoethanol (ME) を含む McCoy's 5A 培養液 (McCoy's 2+) で2回から3回洗浄し0.1% protease (type14, Sigma Chemical Co, St. Louis, Mo) 含有 McCoy's 2+ 液中で16時間4℃で培養した。培養後, 両頭鋭ひで軽く擦過し基底膜上の粘膜上皮細胞を得た。ガーゼで濾過した後200×g, 10分間遠沈後再び McCoy's 2+ 液中に戻した。以上の操作で200から400個の細胞からなる上皮細胞塊が得られた¹³⁾。

2) 細胞の培養

培養皿は、24穴培養皿 (Flow Laboratories Inc.) を用いた。bovine dermal collagen (Vitrogen100, Collagen Co; Palo, Alto, Calif.) を流し乾燥した後、3.5% NH₄OH に25分間つけた。その後水洗し、2.5% グルタルアルデヒドに10分間つけ再び水洗した。培養皿にそれぞれ 1×10^5 の鼻粘膜上皮細胞を入れ、37°C、5% CO₂、100% 湿度の中で24時間培養し、細胞が培養皿に付着するのを待った。McCoy's 2+液で3回洗浄し、遊離細胞を除去した。次に15% fetal calf serum (FCS) を含む McCoy's 2+液 (McCoy's 3+) で37°C、5% CO₂、100% 湿度の中で5~7日間、一様単層 (confluent) になるまで培養した¹³⁾。上記の方法により培養皿の底にケラチン陽性細胞からなる一層を得たことから上皮細胞と判断した。

2. flow cytometry (FCM)¹⁴⁾ による培養鼻粘膜上皮細胞の IL-1 レセプター (IL-1R Type1, IL-1R Type2), TNF-レセプター (TNF-R; 55kDa, TNF-R; 75kDa) の検討

培養鼻粘膜上皮細胞を0.05%トリプシン (GIBCO, USA) で処理して上皮細胞を回収し、PBS-BSA (0.2% BSA および0.1% NaN₃ を含む PBS) にて洗浄した。FITC/PE 結合単クローン抗ヒト IL-1R Type 1 抗体 (Pharmingen, USA), 単クローン抗ヒト IL-1R Type 2 抗体 (Genzyme, USA), 単クローン抗ヒト TNF-R 抗体 (55kDa, 75kDa) (Quantukine, R and D System, Minneapaolis, MN) を添加後5°Cで30分間放置した。再度上皮細胞をPBS-BSAで2回洗浄し、FACS (Becton Dickinson) を使用し分析した。コントロールとして、一次抗体と同型の陰性抗体を使用した。

3. 鼻粘膜上皮細胞の IL-1 α , TNF- α の産生

上皮細胞を5日~7日間 confluent になるまで培養した後 McCoy's 2+液で3回洗浄し、McCoy's 3+液2ml を加えそれぞれ、0時間、3時間、12時間、24時間、48時間培養後上清中のサイトカイン量を測定した。

4. 鼻粘膜上皮細胞の抗 IL-1 α 抗体, 抗 TNF- α 抗体添加による IL-6, GM-CSF, IL-8 産生

鼻粘膜上皮細胞を5日~7日間 confluent になるまで培養した後 McCoy's 2+培養液で3回洗浄し、McCoy's 3+液に抗 IL-1 α 抗体 (単クローン抗ヒト IL-1 α (Genzyme Corporation)), 抗 TNF- α 抗体 (単クローン抗ヒト TNF- α (Sigma chemical company)) をそれぞれ 0.1ng/ml, 1.0ng/ml, 10ng/ml, 100ng/ml, 1000ng/ml, 10000ng/ml とした培養液2ml を加え48時間培養後、培養上清中の各サイトカイン量を測定した。

5. 培養上清中のサイトカインの測定

CM 中の IL-6, GM-CSF, IL-8 の測定は測定キット

(Quantukine, R and D System, Minneapaolis, MN) を用い ELISA 法を行った。GM-CSF は、サンプルを10倍希釈したものを測定し、後に測定結果を10倍した。IL-8, IL-6 は50倍希釈したものを測定し、後に測定結果を50倍した。

6. 培養細胞の%viability, および数

培養鼻粘膜上皮細胞に抗 IL-1 α 抗体, 抗 TNF- α 抗体添加48時間後の上皮細胞の%viability および数を検討した。培養皿に付着した細胞を0.1% Trypsin, 1mM EDTA にて10分間室温で放置、単細胞にした後、遊離細胞とあわせて0.4% トリパンプルー染色し、Fucks-Rosenthal 血球計算版でカウントし%viability と細胞数を計算した。

7. 統計処理

Wilcoxon U 検定と分散分析法を用いた。数値は同一患者から得た試料を2回測定した。その平均値をその値とし、平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。

結 果

1. 培養細胞の%viability および数

細胞の%viability および数は、無刺激と比し抗 IL-1 α 抗体添加群, 抗 TNF- α 抗体添加群とも有意の差は認められなかった。また,%viability は、最低値 $88.1 \pm 3.5\%$ 以上であった。

2. FCM による培養鼻粘膜上皮細胞の IL-1R, TNF-R の検討

IL-1R Type1 の陽性率は $75.8 \pm 3.8\%$, IL-1R Type2 の陽性率は $28.2 \pm 0.2\%$, TNF-R (55kDa) の陽性率は $75.9 \pm 1.3\%$, TNF-R (75kDa) の陽性率は $28.6 \pm 2.0\%$ であった ($n=2$)。

3. 培養鼻粘膜上皮細胞からの IL-1 α , TNF- α の産生

1) IL-1 α 産生量

培養上清液中の IL-1 α 量は、3時間後で 25.2 ± 27.7 pg/ml, 12時間後で 32.3 ± 20.7 pg/ml, 24時間後で 38.1 ± 22.3 pg/ml, 48時間後で 66.8 ± 30.2 pg/ml であった。IL-1 α 量は培養時間依存性に増加した ($p < 0.05$: 分散分析法による) (図1)。

2) TNF- α 産生量

培養上清液中の TNF- α 量は、3時間後で 5.4 ± 4.2 pg/ml, 12時間後で 16.2 ± 10.9 pg/ml, 24時間後で 26.7 ± 18.7 pg/ml, 48時間後で 45.1 ± 35.5 pg/ml であった。TNF- α 量は培養時間依存性に増加を示した ($p < 0.05$: 分散分析法による) (図1)。

4. 抗 IL-1 α 抗体の濃度の違いによる IL-6, IL-8, GM-CSF 産生量 (図2-4)

図1 培養鼻粘膜上皮細胞からのIL-1 α , TNF- α の産生量

IL-1 α , TNF- α とも培養時間依存性の増加がみられる。

■ IL-1 α ▲ TNF- α N = 5

図2 抗IL-1 α 抗体添加による培養鼻粘膜上皮細胞からのIL-6産生量

IL-6の産生量は、抗IL-1 α 抗体添加で有意に抑制された。

*: $p < 0.05$: controlの培養上清と比較 N = 5

IL-6, IL-8, GM-CSF産生量は、抗IL-1 α 抗体の濃度依存的(0.1ng-1000ng/ml)に低下した。IL-6, IL-8, GM-CSFの産生は、抗IL-1 α 抗体添加で有意に抑制された($p < 0.05$: Wilcoxon U検定による)。

5. 抗TNF- α 抗体の濃度の違いによるIL-6, IL-8, GM-CSF産生量(図5-7)

IL-6, IL-8, GM-CSF産生量は、抗TNF- α 抗体の濃度依存的(0.1ng-100ng/ml)に低下した。IL-6, IL-8, GM-CSFの産生は、抗TNF- α 抗体添加で有意に抑制された($p < 0.05$: Wilcoxon U検定による)。

6. 抗IL-1 α 抗体と抗TNF- α 抗体の抑制効果の比較(図8)

抗IL-1 α 抗体と抗TNF- α 抗体によるIL-6, IL-8, GM-CSFの鼻粘膜上皮細胞からの産生抑制効果を比較した。抗体量は、それぞれ最大抑制効果が得られた量(抗IL-1 α 抗体1000ng/ml, 抗TNF- α 抗体100ng/ml)で比較した。その結果、抗IL-1 α 抗体によるIL-6の抑制率は

図3 抗IL-1 α 抗体添加による培養鼻粘膜上皮細胞からのIL-8産生量

IL-8の産生量は、抗IL-1 α 抗体添加で有意に抑制された。

*: $p < 0.05$: controlの培養上清と比較 N = 5

図4 抗IL-1 α 抗体添加による培養鼻粘膜上皮細胞からのGM-CSF産生量

GM-CSFの産生量は、抗IL-1 α 抗体添加で有意に抑制された。

*: $p < 0.05$: controlの培養上清と比較 N = 5

76.3 $\pm$ 6.2%, IL-8の抑制率は55.2 $\pm$ 8.7%, GM-CSFの抑制率は69.3 $\pm$ 4.9%であった。それに対して、抗TNF- α 抗体によるIL-6の抑制率は53.0 $\pm$ 12.3%, IL-8の抑制率は42.9 $\pm$ 13.0%, GM-CSFの抑制率は42.1 $\pm$ 11.5%であった。

IL-6, GM-CSFの産生抑制率は、抗IL-1 α 抗体で、抗TNF- α 抗体に比べ有意に強かった($p < 0.05$: Wilcoxon U検定による)。IL-8の産生抑制率は、両抗体間に有意の差を認めなかった。

考 察

鼻粘膜上皮細胞からIL-6, IL-8, GM-CSF, RANTES, IL-1, TNF- α 等のサイトカインの産生が報告されており^{4)~12)}、アレルギー性鼻炎においてそれらサイトカインの産生が多いとの報告がある⁹⁾。また、鼻粘膜

上皮細胞の免疫染色においてHLA-DR, IL-8, GM-CSF, IL-1R, TNF- α Rの発現を認め、アレルギー性鼻炎患者でより有意に陽性細胞数が増加したとの報告もある¹⁵⁾。今回我々の実験においても、培養鼻粘膜上皮細胞からIL-1 α , TNF- α , IL-6, IL-8, GM-CSFの産生を認めた。RANTESについては、ELISAにて計測を行ったが検出閾値以下であった(未発表データ)。また我々の使用した鼻粘膜上皮細胞のIL-1R, TNF-Rの陽性率は、IL-1R Type1, TNF-R(55kDa)で高かった。Cromwellら¹²⁾の培養ヒト気管支上皮細胞を用いた実験ではIL-1, TNF- α 刺激で、IL-6, IL-8, GM-CSFの産生増強が報告され、Mariniら¹⁶⁾はIL-1による刺激が上皮細胞のIL-1レセプターを介しGM-CSFの産生を増強すると報告している。これらの実験結果は上皮細胞が産生するIL-1, TNF- α が、上皮細胞のレセプターに働きIL-

図6 抗TNF- α 抗体添加による培養鼻粘膜上皮細胞からのIL-8産生量

IL-8の産生量は、抗TNF- α 抗体添加で有意に抑制された。

*: $p < 0.05$: controlの培養上清と比較
N = 5

図5 抗TNF- α 抗体添加による培養鼻粘膜上皮細胞からのIL-6産生量

IL-6の産生量は、抗TNF- α 抗体添加で有意に抑制された。

*: $p < 0.05$: controlの培養上清と比較
N = 5

図7 抗TNF- α 抗体添加による培養鼻粘膜上皮細胞からのGM-CSF産生量

GM-CSFの産生量は、抗TNF- α 抗体添加で有意に抑制された。

*: $p < 0.05$: controlの培養上清と比較
N = 5

図8 抗IL-1 α 抗体と抗TNF- α 抗体添加による培養鼻粘膜上皮細胞からのIL-6, IL-8, GM-CSF産生量の比較

IL-6, GM-CSFの産生量は、抗TNF- α 抗体より抗IL-1 α 抗体添加により有意に抑制された。*: $p < 0.05$ N = 5

■ Control ■ Antibody to IL-1 α (1000ng/ml) ■ Antibody to TNF- α (100ng/ml)

6, IL-8, GM-CSF 産生に影響を与える可能性を示唆している。

今回鼻粘膜上皮細胞から産生される IL-1 α , TNF- α に対し中和抗体 (抗 IL-1 α 抗体, 抗 TNF- α 抗体) を加えた結果, IL-6, IL-8, GM-CSF の産生は有意に抑制された。このことは、鼻粘膜上皮細胞自身が産生した IL-1 α , TNF- α がそれ自身のレセプターに働き IL-6, IL-8, GM-CSF の産生を増強する自己誘導機構が働いたと考えられた。従って、鼻粘膜上皮細胞から産生される IL-6, IL-8, GM-CSF は、他の炎症細胞からのシグナルだけではなく、それ自身が産生している IL-1 α , TNF- α によっても制御されている可能性が大きい。これら自己誘導機構については、他にも B 細胞由来の IL-6 が、B 細胞の Ig-E 産生に影響を与えるとの報告¹⁷⁾、好酸球由来の IL-3, GM-CSF が好酸球の寿命延長に働いているとの報告¹⁸⁾¹⁹⁾、さらにケラチノサイト由来 IL-1 がケラチノサイトに働き IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF を放出し自らの走化性や増殖活性を亢進するなどの報告がみられる²⁰⁾。今回の実験で抗 IL-1 α 抗体と抗 TNF- α 抗体添加によるサイトカイン産生の最大の抑制率を比較してみると、IL-6, GM-CSF の抑制率は、抗 TNF- α 抗体添加より抗 IL-1 α 抗体添加で有意に高く (図 8)、その制御はより IL-1 α が中心的役割を果たしていると考えられた。國本ら²¹⁾も、respiratory syncytial virus 感染 A549 細胞 (alveolar type II cancer cell line) における IL-8 の産生量は抗 IL-1 α 抗体添加で抗 IL-1 β 抗体, 抗 TNF- α 抗体よりも強く抑制されたことを報告している。

一般に細胞におけるサイトカインの自己誘導の機序として、転写因子である Nuclear factor- κ B (NF- κ B) が重要であるとされている^{22)~26)}。感染やアレルギーの炎症のシグナルが細胞に入ると NF- κ B が活性化され²³⁾²⁴⁾、それが IL-1, TNF- α の転写を増強し、産生を増強させる²²⁾。また、その放出された IL-1, TNF- α は、さらに細胞を刺激し NF- κ B を活性化させ²⁵⁾、IL-1, TNF- α の転写だけでなく IL-6, IL-8, GM-CSF の転写を増強し、その産生を増強させると報告されている²²⁾。これらのことと本研究の結果から鼻粘膜上皮細胞では、IL-1 でより NF- κ B の活性化作用が強い可能性が示唆された。

今回の実験では、鼻粘膜上皮細胞が自己誘導機構により、より活性化される可能性を示唆した。以前、我々は培養上皮細胞のサイトカイン産生は、鼻茸上皮細胞もアレルギー患者の上皮細胞も差がない⁷⁾⁸⁾ことを報告しており、今回の実験結果もアレルギー患者独特のものではなく鼻粘膜上皮細胞の性質を表していると考ええる。実際のアレルギー反応においては、上皮細胞はマクロファージ、リンパ球²⁷⁾、肥満細胞²⁷⁾、好酸球等上皮層に遊走され

る炎症細胞からのサイトカインの影響を強く受けておりアレルギー患者独特の上皮細胞からのサイトカイン産生が構築されていると考える。細胞の集積メカニズムを知る上で上皮細胞の自己誘導機構だけではなく、各細胞間におけるサイトカインの影響の検討が今後さらに必要と考える。

参考文献

- 1) Okuda M, Ootuka H: Basophilic cells in allergic nasal secretions. Arch Otorhinolaryngol 214: 283-289, 1977.
- 2) Ootuka H, Okuda M: Important factors in the manifestation of allergy. Arch Otorhinolaryngol 233: 227-235, 1981.
- 3) Bachert C, Hauser U, Prem B, Rudack C, Ganzer U: Proinflammatory cytokines in allergic rhinitis. Eur Arch Otorhinolaryngol 252: 44-49, 1995.
- 4) Polito A, Proud D: Epithelial cells as regulators of airway inflammation. J Allergy Clin Immunol 102: 714-718, 1998.
- 5) Becker S, Koren HS, Henke DC: Interleukin-8 expression in normal nasal epithelium and its modulation by infection with respiratory syncytial virus and cytokines tumor necrosis factor, Interleukin-1, and Interleukin-6. Am J Respir Cell Mol Biol 8: 22-27, 1993.
- 6) 大西正樹, 滝沢竜太, 大久保公裕, 横島一彦, 奥田稔, 他: Fluticasone Propionate の鼻粘膜上皮細胞からの GM-CSF, IL-6, IL-8 産生抑制作用。アレルギー 43: 441-447, 1994.
- 7) 大西正樹, 滝沢竜太, 横島一彦, 大久保公裕, 奥田稔, 他: 鼻粘膜上皮細胞の Tumor Necrosis Factor-Alpha 産生と Fluticasone Propionate による産生抑制。アレルギー 44: 1216-1222, 1995.
- 8) 滝沢竜太, 大西正樹: 鼻粘膜上皮細胞上清中の GM-CSF, IL-6. 日医大誌 64: 45-52, 1997.
- 9) Moises AC, Jagdish LD, Andrew JP, Raymond JS, Robert JD: A comparison of cytokine release from epithelial cells cultured from nasal biopsy specimens of atopic patients with and without rhinitis and nonatopic subjects without rhinitis. J Allergy Clin Immunol 99: 65-76, 1997.
- 10) Kenney JS, Baker C, Welch MR, Altman LC: Synthesis of Interleukin-1 α , Interleukin-6, and Interleukin-8 by cultured human nasal epithelial cells. J Allergy Clin Immunol 93: 1060-1067, 1994.
- 11) Ohtosi T, Vancheri C, Cox G, Gauldie J, Dolovich J, et al: Monocyte-macrophage differentiation induced by

- human upper airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 4: 255-263, 1991.
- 12) Cromwell O, Hamid Q, Corrigan CJ, Barkans J, Meng Q, et al: Expression and generation of interleukin-8, IL-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by bronchial epithelial cells and enhancement by IL-1 β and tumor necrosis factor- α . *Immunology* 77: 330-337, 1992.
 - 13) Ohnishi M, Ruhno J, Bienenstock J, Dolovich J, Denburg JA: Hematopoietic growth factor production by cultured cells of human nasal polyp epithelial scrapings: kinetics, cell source, and relationship to clinical status. *J Allergy Clin Immunol* 83: 1091-1100, 1989.
 - 14) Pawankar R, Okuda M, Yssel H, Okumura K, Ra C: Nasal mast cells in perennial allergic rhinitis exhibit increased expression of the Fc ϵ RI, CD40L, IL-4 and IL-13, and can induce IgE synthesis in B cells. *J Clin Invest* 99: 1492-1499, 1997.
 - 15) Nonaka M, Nonaka R, Jordana M, Dolovich GM: CSF, IL-8, IL-1R, TNF- α , and HLA-DR in Nasal Epithelial Cells in Rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 1675-1681, 1996.
 - 16) Marini M, Soloperto M, Mezzetti M, Mattoli S: Interleukin-1 binds to specific Receptors on human bronchial epithelial cells and upregulates granulocyte/macrophage colony stimulating factor synthesis and release. *Am J Respir Cell Mol Biol* 4: 519-524, 1991.
 - 17) Jabara HH, Fu SM, Geha RS, Donata V: CD40 and IgE: synergism between anti-CD40 monoclonal antibody and interleukin-4 in the induction of IgE synthesis by highly purified human B cells. *J Exp Med* 172: 1861-1864, 1990.
 - 18) Kita H, Ohnishi T, Okubo Y, Weiler D, Abrams JS, et al: GM-CSF and interleukin 3 release from human peripheral blood eosinophils and neutrophils. *J Exp Med* 174: 745-748, 1991.
 - 19) Anwar ARE, Moqbel R, Walsh GM, Kay AB, Wardlaw AJ: Adhesion to fibronectin prolongs eosinophil survival. *J Exp Med* 177: 839-843, 1992.
 - 20) Shigeyuki N, Claudio F, Daniel N: Keratinocyte Cytokines. Mosby-Year Book: pp 83-101, 1991.
 - 21) 國本 優, 山中 昇: RSV 粘膜感染による免疫細胞の誘導機序 粘膜感染と炎症・免疫応答 清野 宏 編, 医歯薬出版: 151-155頁, 1996.
 - 22) Timothy SB, Jhon WC: The role of nuclear factor- κ B in cytokine gene regulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 17: 3-9, 1997.
 - 23) Akira S, Kisimoto T: IL-6 and NF-IL6 in acute-phase response and viral infection. *Immunol Rev* 127: 25-50, 1992.
 - 24) Asahara H, Asanuma M, Ogawa N, Nisibayashi S, Inoue H: High DNA-binding activity of transcription factor NF- κ B in synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis. *Biochem Mol Biol Int* 37: 827-832, 1995.
 - 25) Ito CY, Kanzantsev AG, Baldwin Jr AS: Three NF-kappa B sites in the I kappa B-alpha promoter are required for induction of gene expression by TNF alpha. *Nucleic Acids Res* 22: 3787-3792, 1994.
 - 26) Liou HC, Baltimore D: Regulation of the NF-kappa B/rel transcription factor and I kappa B inhibitor system. *Curr Opin Cell Biol* 5: 477-487, 1993.
 - 27) Pawankar R, Ra C: Heterogeneity of mast cells and T cells in the nasal mucosa. *J Clin Immunol* 6: 248-262, 1998.
-
- 稿を終えるにあたり、ご校閲を頂きました八木聡明教授に深く感謝の意を捧げます。
- 本論文の要旨は、The Third Asian Research Symposium in Rhinology (名古屋, 1998) で発表した。
-
- (1999年11月13日受稿 2000年3月9日受理)
 別刷請求先 〒113-8603 東京都文京区千駄木1-1-5
 日本医科大学耳鼻咽喉科学教室 山岸茂夫

IL-1 and TNF- α -mediated regulation of IL-6, IL-8, and GM-CSF release from cultured nasal epithelial cells

Shigeo Yamagishi, M.D., Masaki Ohnishi, M.D., Ruby Pawankar, M.D.

Department of Otolaryngology, Nippon Medical School, Tokyo

IL-6, IL-8 and GM-CSF regulate inflammatory cell infiltration and survival at sites of inflammation. IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8 and GM-CSF have been reported to be released from cultured nasal epithelial cells (CNEC). Here, focusing on IL-1 and TNF- α as key cytokines, we examined whether these two cytokines could regulate the release of IL-6, IL-8 and GM-CSF from CNEC. CNEC were treated with antibodies to IL-1 α and TNF- α at various doses

for a period of 48 hrs. The levels of IL-6, IL-8 and GM-CSF in the culture supernatants were then estimated by ELISA. Treatment of CNEC with antibodies to IL-1 α and TNF- α inhibited the release of IL-6, IL-8 and GM-CSF from them in a dose-dependent manner. The inhibition of IL-6 and GM-CSF release was significantly greater after treatment of the CNEC with the antibodies to IL-1 α . Furthermore CNEC expressed IL-1 receptors and TNF receptors. These results suggest that the epithelial cell-derived IL-1 α and TNF- α can regulate the release of other cytokines like IL-6, IL-8 and GM-CSF in an autocrine manner.

Key words : nasal allergy, nasal epithelial cells, autocrine, IL-1 α , TNF- α