慢性関節リウマチとサイトカイン

cytokines and rheumatoid arthritis

宮坂信之・檜垣 恵*

Nobuyuki Miyasaka・Megumu Higaki

lecture

炎症 VOL.10 NO.6 NOVEMBER 1990

慢性関節リウマチ(RA)は、関節滑膜を病変の主座とする慢性かつ進行性の炎症性疾患です。

RAの滑膜における病理組織学的特徴を大別すると、以下の3点に集約されます¹⁾。

- ① 血管の新生
- ② リンパ球浸潤
- ③ 滑膜細胞の増殖

そして、このような変化が持続することにより、やがて軟骨、骨の破壊が起こり、関節組織の破壊にも至ります。なかでも、滑膜細胞の増殖はいちじるしく、あたかも腫瘍のように自律性に増殖し、軟骨、骨を侵します。このような病変が起こる背景には、免疫異常、遺伝的要因、内分泌異常、環境要因などが複雑に関与していることが推測されていますが、その本態は、不明といわざるをえないのが現状です。

しかし最近になり、このような病理組織学的変化を起こす作用分子(effector molecules)としてサイトカインが注目されるようになりました。

サイトカインは、本来は生体の恒常性の維持に必須の役割を担っている生理活性物質です。そして、生体内には多種の産生調節機構が存在し、微妙なバランスが存在しています。しかし、RAではその産生調節機構の逸脱により、サイトカイン産生の正のフィードバック機構が働き、複数のサイトカインが止まるところを知らず、持続的あるいは構成的に産生されてしまいます。その結果、局所で産生された複数のサイトカインが、相加的、ときには相乗的にその作用を発揮することにより、RAの病変が形成されるものと考えられるようになってきています²⁾。

本稿では、サイトカインがRA特有の病変である滑膜増殖を引き起こす機序について、筆者らの知見をまじえて概説してみたいと思います。

サイトカイン産生細胞

関節滑膜内では多様な細胞がサイトカインを産生する能力を有しています³⁾。

まず第一にあげられるのは、滑膜細胞です。滑膜細胞

は、インターロイキン(IL-1)やインターロイキン6(IL-6)をはじめとする炎症性サイトカインを大量に産生しています^{4,5)}(後述)。このほか、血管内皮細胞、軟骨細胞などもサイトカイン産生能力を有しており、RAのような病態では、炎症性サイトカインを産生していることが推測されています。また、浸潤しているリンパ球もサイトカインをつくっているものと想像されますが、現時点ではあまり明らかにされているものではありません。

このなかで、滑膜細胞についてももう少し詳しく述べてみようと思います。滑膜細胞(synovial cell, synovio-cyte)は、単層あるいは2~3層の厚みをもって滑膜表層を覆っている滑膜表層細胞(synovial lining cell)と、滑膜浅層に位置する滑膜間質細胞(synovial stromal cell)の2種類に大別されます。滑膜表層細胞は、RAでは多層化あるいは重層化することが特徴的です。しかし、RAで増殖している滑膜細胞の比率からみれば、ごく一部といったほうがいいでしょう。RAで増殖して量的に増加しているのは、主として滑膜間質細胞です。この滑膜間質細胞があたかも腫瘍のように増殖して、さまざまな細胞傷害性物質やサイトカインなどを産生するのです。また、一部の滑膜間質細胞は増殖し、しだいに表層に向かって移動し、重層化している滑膜表層の一部を形成するとも推測されています。

滑膜細胞は形態学的にみて、少なくとも3種類の細胞群に大別されます。その一つとして、まずマクロファージ様細胞があげられます。この細胞は、別名A型細胞ともよばれています。形態学的にマクロファージ様の構造をとるばかりでなく、HLA-DR抗原やCD14などのマクロファージ系分化抗原を発現しています。細胞表面にはIgG Fcレセプターや、C3bレセプターを発現しています。この細胞は、活発な貪食機能や分泌機能を有することも知られています。活動期RAでは、このマクロファージ様細胞が増加しているのが特徴的です。これらの細胞の一部は、もともと組織内に存在している、いわゆるresident macrophageですが、その大半は血管内から滑膜内に呼び寄せられたrecruited macrophageであろうと考えられます(後述)。

2番目の細胞群は、B型細胞ともよばれる線維芽細胞様の滑膜細胞です。形態学的には線維芽細胞の形をしており、マクロファージ系の分化抗原はまったく発現していません。この細胞はもともと滑膜間質を構成している

* Department of Immunological Diseases, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University 東京医科歯科大学難治疾患研究所ウイルス・免疫疾患部門

図1 IL-1の多様な生理活性

細胞であり、サイトカインの関与により増殖するものと思われます。ヒアルロン酸などを産生していることが知られています。

樹状細胞 (dendritic cell) は、滑膜細胞の中の第3番目の細胞群です。C型あるいはD型細胞ともよばれます。数量的には少数しか存在しませんが、抗原提示能を持っており、RA滑膜における免疫応答の持続に関与しているのかもしれません。

では、これら滑膜細胞のなかのいずれがサイトカインを産生するのでしょうか。

この点に関して、Goto⁵⁾は、RA滑膜細胞を長期培養することによってクローン化滑膜細胞株を樹立して検討を行いました。その結果、上記のA、B、Cのいずれの型の滑膜細胞も無刺激下で長期にわたってIL-1を産生していることが判明しました。また、その後の筆者らの検討では、IL-6の産生も同様でした⁶⁾。このように、RAでは増殖している滑膜細胞は構成的に大量のサイトカインを産生し、病態形成や炎症の持続・進展に関与しているものと思われます。

つぎに、どのようなサイトカインが滑膜増殖に関与しているのか、について述べてみたいと思います。

インターロイキン1 (IL-1)

IL-1は、主として単球/マクロファージ系細胞によって産生されるサイトカインです。IL-1の生理活性は多

図2 IL-1の産生調節

——: 産生誘導, - - -: 産生抑制

様ですが、その多くは炎症に関係しています(図1)。

生体内にはIL-1の制御機構が存在しています(図2)。IL-1産生の負の制御因子としては、プロスタグランジン(PG)、グルコルコチコイドのような非特異的物質に加えて、IL-1レセプター・アンタゴニストやウロモジリンなどの特異的IL-1インヒビターがありま

図3 RAの関節組織破壊におけるサイトカインの関与

す。これに対して、正の制御因子としては、腫瘍壊死因子(TNF α)、インターフェロン(γ -IFN)などが知られ、また、IL-1自体もIL-1産生を誘導するという正のフィードバック機構が存在することが知られています。生理的な状況下では、このような正と負の制御因子がバランスよく作用して、IL-1の産生を調節しています。しかし、RAでは滑膜内でIL-1の制御機構の逸脱が起こり、IL-1の過剰産生が持続的に起こっています。

RAでは関節液中や滑膜細胞培養上清中に強いIL-1活性を証明することが出来ます。IL-1活性は、胸腺細胞増殖誘導活性(LAF活性)、線維芽細胞増殖誘導活性、腫瘍細胞増殖抑制活性(GIF活性)を利用したバイオアッセイや、ELISAのいずれでも検出することが出来ます。このIL-1は、IL-1 β が主体です。滑膜細胞からのIL-1産生は、滑膜組織の炎症の程度、罹患関節の骨破壊度などよく相関しています⁴⁾。ただし、IL-1の滑膜細胞からの産生自体は変形性関節症や無風性関節炎をはじめとする他の関節炎でもみられ、特にRAに特異的な現象ではありません。

ただ、RAでは恒常的あるいは構成的(constitutive)に産生が亢進している点が他の疾患と異なるのです。RAにおいて、恒常的にIL-1を産生させる刺激がなんであるかについては今後の課題でしょう。

関節局所で産生されたIL-1が関節破壊に関与する機序を図示すると図3のようにまとめられると思います。

図4 IL-1による滑膜細胞の増殖誘導作用

RA滑膜細胞に対してリコンビナントIL-1 β を添加、5日間培養した。

このなかで、特に滑膜増殖についてもう少し述べてみましょう。

IL-1には強い滑膜増殖作用が認められます。実際に、*in vitro*でRA患者滑膜細胞をIL-1の存在下で培養すると、用量依存的に滑膜細胞の増殖を誘導することが出来ます(図4)。ただし、この作用は血清の存在下でのみみられます。これに対して、PDGF(後述)は血清の非存在下でも滑膜細胞の増殖誘導作用があります。滑膜細胞の増殖においては、IL-1はprogression factorであり、

図5 IL-6の多様な生理活性

PDGFはcompetence factorであるということが出来ましょ。さらに、IL-1の作用によって増殖するのは、滑膜細胞の中でもB型細胞です。この点において、IL-1は滑膜細胞のautocrineあるいはparacrine growth factorということが出来ます。

腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor, TNF α)

TNF α の産生細胞はIL-1産生細胞とほぼ重複します⁷⁾。また、TNF α の産生刺激もIL-1のそれとほぼ同様です。さらに、TNF α の有する生物活性の多くはIL-1と重複しています。また、TNF α はIL-1の、IL-1はTNF α の産生をお互いに誘導することより、炎症病巣でTNF α がIL-1と協同して作用を発揮している可能性が考えられています。RA関節液中にはTNF α 活性を証明したという報告もみられ⁹⁾、また、TNF α 自体には弱いながら滑膜細胞増殖誘導活性もみられます。

しかし、筆者らの検討結果では、RA滑膜細胞培養上清中にはほとんどTNF α は検出出来ず、また、特異抗体を用いた免疫組織学的検索においても、TNF α は検出されていません。RAにおけるTNF α の関与について

は、今後の検討が必要のようです。

IL-6

IL-6は、B細胞が形質細胞へと分化して抗体を産生する最終過程に作用するサイトカインです⁹⁾。IL-6は、このほかにも多彩な生理活性を有しています(図5)。

RAでは関節液内のIL-6活性は上昇しており、関節液内単核球中のIL-6特異的mRNA量も増加していることが明らかにされています⁹⁾。RA滑膜内におけるIL-6産生細胞は多様であり、リンパ球、滑膜細胞、血管内皮細胞などがあげられます⁶⁾。しかし、主たる産生細胞は滑膜細胞のようです。滑膜内で産生されたIL-6は、滑膜組織内でのリウマトイド因子の産生に寄与したり、血中を介して肝からの急性炎症蛋白産生を誘導したりしていることが推測されています。

しかし、*in vitro*において、IL-6自体には滑膜細胞の増殖を誘導する作用はみられません。また、IL-6には破骨細胞活性化因子(OAF)様の活性や、血管増生(angiogenesis)活性なども認められません。これらのことから、亢進しているIL-6産生が、RAに特異的な病

図6 滑膜組織からの PDGF 産生

像形成に寄与しているかどうかについては不明というのが妥当と思われます。

PDGF(platelet-derived growth factor)

PDGF は血小板の α 顆粒に由来する 30 kD の糖蛋白であり、A、B 2本のポリペプチドからなっています。ちなみに、B鎖は癌遺伝子の c-sis の遺伝子物質です。PDGFの作用として注目されるものに線維芽細胞増殖誘導活性があります。従来は、IL-1 自体が線維芽細胞増殖を誘導すると考えられてきました。最近になり、この反応に PDGF-A が介在しており、線維芽細胞の増殖に直接関与しているのは PDGF であることが明らかにされています¹⁰⁾。

RA でも滑膜細胞、ことに線維芽細胞様の B 型細胞が PDGF に反応して増殖すること¹¹⁾、また RA 滑膜細胞上には PDGF レセプターが発現していることが¹²⁾、最近、報告されています。特に、Kumkumian ら¹¹⁾は、PDGF は IL-1 と相乗的に作用して、B 型滑膜細胞の増殖や PG 合成を促進するが、PDGF は滑膜細胞からのコラゲナーゼ産生を抑制する点において IL-1 と異なることを報告しています。

また、Butler ら¹³⁾は、PDGF は IL-1 と同様に B 型滑膜細胞の DNA 合成を促進するが、IL-1 と異なり、滑膜細胞からのプラスミノゲン・アクチベーターやヒアルロン酸の産生は誘導しないとしています。筆者らの最近の検討では、RA 活動期滑膜組織から PDGF 産生されており、非活動期にはみられないことが明らかになりました(図6)¹⁴⁾。さらに、PDGF 産生細胞は活動期に滑膜に増加している A 型細胞であり、PDGF のなかでも PDGF-B を産生していることなども同時に明らかとなっています。しかも、すでに述べたように、PDGF は、血清の非存在下でも滑膜細胞の増殖を誘導し、サイトカインのなかでもっとも低濃度で強力に滑膜細胞の増殖を誘導します(図7)。このように、PDGF も RA

図7 滑膜細胞増殖に及ぼすサイトカインの影響

5%血清存在下で5日間培養して、色素染色で細胞数を定量した。

滑膜増殖における paracrine growth factor の一つであると考えられます¹⁴⁾。

CSF

CSF とよばれるサイトカインには、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、および IL-3 の4種が知られていますが、このほかに IL-6 にも multi-CSF 活性があることが明らかにされています。

このなかで、RA では GM-CSF と M-CSF(CSF-1) の役割が注目されつつあります。GM-CSF は、主として T 細胞によって産生され、顆粒球やマクロファージのコロニー形成を誘導するサイトカインとして知られています。Zvaifler らのグループは、RA 関節液中の GM-CSF 活性が上昇していることを強調しており、滑膜細胞における異所性 HLA-DR 抗原発現の一因とみなしています¹⁵⁾。また、同グループは、RA の関節液や滑膜組織培養上清中には M-CSF 活性も検出されていることを明らかにしており、肥満細胞増殖因子として作用していることを推測しています¹⁶⁾。

その他のサイトカイン

滑膜細胞の増殖を誘導するサイトカインとしては、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)、上皮細胞増殖因子

(EGF), インスリン様成長因子 I (IGF-1), transforming growth factor α (TGF α), TGF β , γ -INF などが知られています。これらのサイトカインは, γ -INF を除いていずれも単球/マクロファージ系細胞によって産生されるモノカインに属するものであり, 滑膜細胞のなかでも特に A 型細胞によって産生されているものと思われます。

bFGF は, PDGF と同様に competence factor として滑膜細胞増殖に作用します。培養滑膜細胞が bFGF を産生するのみならず, 滑膜細胞自身が特異的レセプターを発現し, bFGF に反応して増殖することが Melnyk ら¹⁷⁾によって報告されています。滑膜増殖の autocrine growth factor の一つといえましょう。

TGF α は, 単独で強力な滑膜細胞増殖因子として作用します¹⁸⁾。これらに対して, TGF β は, IL-1 の存在下で TGF α に匹敵する滑膜増殖作用を有しています。また, TGF β の作用は二面的であり, anchorage-independent な環境下では PDGF や EGF による滑膜増殖を阻害することも知られています^{19~21)}。

EGF は, 滑膜表層細胞や B 型細胞から産生され, RA では血管新生と正の相関があるとされています²²⁾。

おわりに

このように, RA の病態にはサイトカインが深く関わっています。関節滑膜を構成する細胞, なかでも滑膜細胞が IL-1 をはじめとする, ささまざまな炎症性サイトカインを産生し, しかもこれらのサイトカインに対する特異的レセプターを発現することにより, みずから産生したサイトカインのシグナルを受け取っています。特に, 滑膜増殖に関しては, サイトカインが autocrine あるいは paracrine growth factor として重要な働きをしていることは注目に値すると思われます。そして, このような反応は関節滑膜内で止まるところを知らずに持続し, 滑膜細胞はあたかも腫瘍のように自律性に増殖します。

このようなサイトカイン遺伝子の持続的活性化はなにによってもたらされているのでしょうか。このメカニズムが明らかになれば, 炎症性サイトカインの産生制御が可能となり, 新たな RA の治療法も開発されることになると思います。

文 献

- 1) 宮坂信之: 慢性関節リウマチにおける滑膜病変—概説. 臨床免疫 21: 45, 1989.
- 2) 宮坂信之: 炎症とサイトカイン. サイトカイン産生調節の逸脱. Mebio 7: 36, 1990.
- 3) Dinarello, C.A.: Interleukin-1 and other growth factors. Textbook of rheumatology 3rd ed. (ed. Kelly, W.N., Harris, E.D., Ruddy, S., Sledge, C.B.), W.B. Saunders, Philadelphia, 1989,

p 285.

- 4) Miyasaka, N., Sato, ., Goto, M., et al.: Augmented interleukin-1 Production and HLA-DR expression in the synovium of rheumatoid arthritis. Arthritis & Rheum. 31: 480, 1988.
- 5) Goto, M., Sasano, M., Yamanaka, H. et al.: Spontaneous production of interleukin-1-like factor by cloned rheumatoid synovial cells in long-term culture. J. Clin. Invest. 80: 76, 1987.
- 6) Miyasaka, N., Sato, K., Hirose, J. et al.: Constitutive production of interleukin-6/B cell stimulatory factor-2 from inflammatory synovium. Clin. Immunol. Immunopathol. 52: 238, 1989.
- 7) 山崎正利: tumor necrosis factorと炎症サーキット. 炎症 10: 163-170, 1990.
- 8) Yocum, D.E., Esparza, L., Dubry, S. et al.: Characteristics of tumor necrosis factor production in rheumatoid arthritis. Cell. Immunol. 122: 131, 1989.
- 9) Hirano, T., Matsuda, T., Tuner M. et al.: Excessive production of interleukin-6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. Eur. J. Immunol. 18: 1797, 1988.
- 10) Raines, E.W., Dower, S.K., Ross, R.: Interleukin-1 mitogenic activity for fibroblasts and smooth muscle cells is due to PDGF-AA. Science 243: 393, 1989.
- 11) Kumkumian, G.K., Lafyatis, R., Remmers, E.F. et al.: Platelet-derived growth factor and IL-1 interactions in rheumatoid arthritis. J. Immunol. 143: 833, 1989.
- 12) Rubin, K., Terracio, L., Ronnstrand, L. et al.: Expression of platelet-derived growth factor receptors is induced on connective tissue cells during chronic synovial inflammation. Scand. J. Immunol. 27: 285, 1988.
- 13) Butler, D.M., Leizer, T., Hamilton, J.A.: Stimulation of human synovial fibroblast DNA synthesis by platelet-derived growth factor and fibroblast growth factor. J. Immunol. 142: 3098, 1989.
- 14) Higaki, M., Sato, K., Tatehi, M. et al.: Involvement of macrophage-like cells and platelet-derived growth factor(PDGF)in synovial proliferation.(submitted for publication).
- 15) Xu, W., Firestien, G.S., Taetle, R. et al.: Cytokine in chronic inflammatory arthritis. J. Clin. Invest. 83: 876, 1989.
- 16) Firestein, G.S., Xu, W., Townsend, K. et al.: Cytokines in chronic inflammatory arthritis. J. Exp. Med. 168: 1573, 1988.
- 17) Melnyk, V.O., Shipley, G.D., Sternfeld, M.D. et al.: Synoviocytes synthesize, bind, and respond to basic fibroblast growth factor. Arthritis & Rheumatism 33: 493, 1990.
- 18) Taylor, D.J., Feldmann, M., Evanson, J.M. et al.: Comparative and combined effects of transforming growth factors and interleukin-1 and interferon- on rheumatoid synovial cell

- proliferation, glycolysis and prostaglandin E production. *Rheumatol. Int.* 9: 59, 1989.
- 19) Lafyatis, R., Remmers, E.F., Robert, A.B. et al.: Anchorage-independent growth of synovio-cytes from arthritic and normal joints. *J. Clin. Invest.* 83: 1267, 1989.
- 20) Fava, R., Olsen, N., Keski-oja, J. et al.: Active and latent forms of transforming growth factor activity in synovial effusions. *J. Exp. Med.* 169: 291, 1989.
- 21) Lafyatis, R., Thompson, N.L., Remmers, E.F. et al.: Transforming growth factor- production by synovial tissues from rheumatoid patients and streptococcal cell wall arthritic rats. *J. Immunol.* 143: 1142, 1989.
- 22) Shiozawa S., Shiowasa, K., Tanaka, Y. et al.: Human epidermal growth factor for the strarification of synovial lining layer and neovascularisation in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheu. Dis.* 48: 820, 1989.