TNF

Tumor necrosis factor

井上 守・猪子英俊・辻 公美*

Mamoru Inoue・Hidetoshi Inoko・Kimiyooshi Tsuji*

lecture

炎症 VOL.12 NO.1 JANUARY 1992

癌患者が細菌感染を併発した際、癌の壊死性退縮が生じる現象は、1800年代より観察されていた。その後、癌の治療に細菌製剤の使用が検討され、グラム陰性菌の活性物質として lipopolysaccharide (LPS) が得られた。また、LPS に対する感受性が BCG の前感作により増強することも明らかにされた。

こうした背景のもとで 1975 年に E.A. Carswell や L.J. Old らは、BCG 感作の 2 週間後に LPS を投与したマウス血中に、移植腫瘍に出血性壊死をもたらす物質を見出した。彼らはその生物活性から、この物質を腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor, TNF)と命名した¹⁾。この物質は *in vivo* 移植腫瘍に対してのみならず、*in vitro* でも腫瘍細胞特異的に cytotoxic あるいは cytostatic な作用を示すことから抗腫瘍剤への展開が期待された。1984 年には TNF 遺伝子のクローニングがなされ、その塩基配列から TNF 蛋白の一次構造が明らかにされた²⁾。一方、癌や感染症における悪液質の原因物質として精製された cachectin のアミノ酸配列が解析された結果、TNF と同一物質であることが判明した³⁾。また、TNF の発見以前より活性化 T リンパ球の産生する腫瘍細胞障害物質として報告されていた lymphotoxin(LT)⁴⁾ の遺伝子もクローニングされた²⁾。解析の結果、LT の遺伝子構造や構成アミノ酸に TNF と相同性が認められた。

さらに、TNF と同一の受容体に結合し、同様の生物活性を示すことから⁵⁾、TNF/cachectin を TNF α 、LT を TNF β と表示するようになった。両因子の遺伝子は、ヒト第 6 染色体短腕上の主要組織適合複合体(major histocompatibility complex, MHC)遺伝子領域内に近接して存在し、と

もに 4 個のエキソンから構成されている。両遺伝子の塩基配列の相同性は第 4 エキソンで特に高く(56%)、同一の祖先遺伝子から重複により形成されてきた可能性が強い^{5,6)}。ヒト TNF α は 157 個のアミノ酸からなり、分子内にジスルフィド結合を有する単純蛋白である。一方、TNF β は 171 個のアミノ酸からなる糖蛋白で、両因子とも、通常は 3 量体で存在している。また、TNF α については膜結合型や不活性な前駆体の存在も認められている^{7,8)}。

本稿では TNF の生物活性と遺伝子多型に関する最近の知見を紹介する。

TNF の生物活性と受容体

TNF は、腫瘍細胞を特異的に傷害する因子として見出されたが、その後、多くの細胞に種々の作用を示すことが明らかにされた。今日では腫瘍に対する作用よりも、むしろ、炎症性サイトカイン群の枢軸的な役割を担うものとして注目されている。その主な作用は、① それ自身、内因性発熱物質として体温上昇に関与するだけでなく、IL-1 の産生を介して発熱作用を示す⁹⁾。② 滑膜の線維芽(様)細胞の増殖を促進する¹⁰⁾。③ 滑膜細胞や皮膚線維芽細胞から PGE₂ やコラゲナーゼの産生を促す¹¹⁾。④ 白血球遊走への関与¹²⁾：血管内皮の白血球接着分子である ELAM-1 や ICAM-1 の発現を増強する¹³⁾。また、好中球や好塩基球の走化性因子である IL-8 や単球の走化性因子である MCAF の産生を誘導する^{14,15)}。⑤ 多核球や単球を活性化し、活性酸素や PAF の産生を誘導する¹⁶⁾。⑥ 骨に対してはコラーゲンやアルカリフォスファターゼを指標とした骨新生の阻害や ⁴⁵Ca 放出を指標とした骨破壊の増強作用を示す¹⁷⁾。

これらの多様な作用の発現に至るシグナル伝達

* The Department of Transplantation, Tokai University School of Medicine 東海大学医学部移植Ⅱ

はいまだ明らかではないが、ほかのサイトカインと同様、細胞表面に存在する TNF 受容体との結合により開始されるものと考えられている。すでに 2 種の TNF 受容体遺伝子のクローニングが報告されている^{18,19)}。また、尿中や血中に TNF の作用を阻止する TNF 結合蛋白(TNF-BP)の存在が知られていたが^{20,21)}、活性化された白血球から TNF 受容体が shedding し、可溶性受容体として TNF に結合するものと考えられる^{22,23)}。このような可溶性受容体による活性制御は IL-1 や IL-2 などでも知られており、生体内でのサイトカイン制御機構として注目される。

TNF 受容体に関連して、米原らは TNF の腫瘍細胞傷害活性とほかの活性が別の機構で作用している可能性を示した。彼らは、細胞膜に存在し、細胞死を起こす分子：Fas を見出し、TNF 受容体との挙動の一致性から“TNF の細胞傷害活性に感受性の細胞では TNF 受容体と Fas が会合しており、TNF 受容体に TNF が結合することにより Fas にもシグナルが伝達され細胞死に至る。一方、TNF に抵抗性の細胞では、Fas と TNF 受容体が解離していて TNF の受容体への結合によっても Fas の活性化は起きず、細胞は抵抗性を示す”との仮説を提唱している^{24,25)}。

このような分子はほかのグループからも報告されているが²⁶⁾、N. Itoh らは米原らと共同で Fas 遺伝子のクローニングを行い、その遺伝子を移入した細胞で Fas の発現を確認している。しかし、TNF に対する感受性は増加せず、仮説の実証には至っていない²⁷⁾。TNF の作用解析に重要な知見であり、今後の展開が注目される。

サイトカインネットワークと TNF

TNF を含む種々のサイトカインは、それぞれ独立した作用を示すとともにほかのサイトカインの産生に関与し、いわゆる“サイトカインネットワーク”を形成している。TNF は IL-1¹⁹⁾、IL-6²⁸⁾、IL-8¹⁴⁾ や、M-CSF、GM-CSF などの産生を誘導する。また逆に、TNF は IL-1、IL-6、GM-CSF や、TNF 自身によって産生誘導される²⁹⁾。これらサイトカインはその作用も一部重複し、相互に密接に関連している。このサイトカインネットワークにおける TNF の位置づけはいまだ明確ではないが、septic shock やリウマチ性関

節炎(RA)においてトリガーとして機能していることを示す成績が報告されている。

LPS によるサイトカイン誘導の kinetics をみると、TNF は LPS 投与後速やかに上昇し、90分前後に最大値を示す。IL-6、IL-8、IL-1、M-CSF などは TNF に遅れて上昇する^{30~32)}。この際、抗 TNF 抗体で前処置しておくと IL-6、IL-1 の上昇がみられなくなる^{33,34)}。また、RA 患者の滑膜細胞では TNF や IL-1 の産生放出がみられるが、抗 TNF α 抗体で IL-1 産生の抑制がみられる(このとき、抗 TNF β 抗体では抑制はみられない)³⁵⁾。これらの成績から septic shock や RA における IL-1 や IL-6 の産生は、TNF によって誘導されている可能性が考えられる。

TNF と疾患

前節でも触れたが、敗血症に対する TNF の関与はよく検討されており、抗 TNF 抗体の処置で効果が認められている^{34,36,37)}。RA についても多くの報告がなされており、患者関節滑液中や血中で TNF の増加が報告されている。その上昇は疾患の程度とよく相関している³⁸⁾。そのほか、川崎病、潰瘍性大腸炎、クローン病、ベーチェット、SLE などでは血中 TNF の上昇が報告されている^{39~42)}。IDDM では状況は複雑で、血中濃度や末梢単核球での産生能に明確な変化は認められていない^{43,44)}。しかし、IDDM の自然発症モデル動物である NOD マウスや BB ラットの脾臓細胞では、TNF の m-RNA の発現が認められている^{45,46)}。一方、TNF の投与でこれらの発症が抑制できるとの報告もなされている。

その他、動物実験ではラット心移植⁴⁷⁾や、実験的脳脊髄炎⁴⁸⁾で抗 TNF 抗体の効果が認められている。また、TNF が HIV や HSV のウイルス増殖を刺激することも報告されている^{49,50)}。

TNF 遺伝子の多型性と疾患

TNF 遺伝子は、第 6 染色体短腕上の MHC 遺伝子領域内にあり、HLA-B 遺伝子の約 210kb セントロメア側に座位している(図 1)。HLA 遺伝子群は多くの対立遺伝子から構成され、そのそれぞれが広範囲に連鎖不平衡の関係にあることが知られている⁵¹⁾。また、HLA 抗原型と疾患との相関が数多く報告されている⁵²⁾。TNF 遺伝子もこ

図1 ヒト主要組織適合複合体遺伝子領域の構造

れら周辺遺伝子と連鎖していることが推測され、その多型性と疾患との関連が注目される。

C.O. Jacob & H.O. McDevit は、マウス $TNF\alpha$ 遺伝子の多型性と TNF 産生との関連性を検討した。彼らの成績では、自己免疫疾患を自然発症するマウスでは共通の遺伝子型(NZW マウスにみられる型：便宜的に NZW 型と表示)を有し、 TNF 産生が低下していた。さらに、彼らは TNF の投与で発症遅延がみられることを報告した⁵³⁾。

しかし、J.M. Boswell らは NZW 型を示す MRL/lpr マウスで腎炎の発症に伴い TNF の mRNA の発現が増強することを報告した⁵⁴⁾。

さらに、G. Richter らは、NZW 型の遺伝子は多くの系統にみられる型で、自己免疫疾患との相関は認められないことを報告した⁵⁵⁾。

ヒトでは1986年に S.A. Nedospasov らが、 $TNF\alpha$ 遺伝子から $TNF\beta$ 遺伝子にわたる全塩基配列を解析し、1985年に報告された G.E. Nedwin ら⁶⁾の塩基配列との違いを示した⁵⁶⁾。1988年に S.Y. Choo らは、制限酵素 $NcoI$ の処理で $TNF\alpha/\beta$ に多型性(restriction fragment length polymorphisms, RFLP) : 5.5kb 型と 10.5kb 型の存在を示し、HLA-B 抗原との関連性を報告した⁵⁷⁾。

筆者らは HLA 遺伝子の解析を行ってきたが、杏林大学第一外科の八木田らの潰瘍性大腸炎やクローン病における TNF の上昇と疾患の活動度との相関から、また、HLA-B 抗原と疾患との相関から、彼らと共同で TNF 遺伝子の多型性と疾患との関連性を検討した。

末梢白血球から DNA を調製し、 $NcoI$ 酵素で処理したあと、 $TNF\beta$ 遺伝子の第4エキソン部分をプローブとしてサザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、S.Y. Choo らの報告⁵⁷⁾と同様、5.5kb と 10.5kb のフラグメントがみられた(図2)。 $TNF\alpha$ 遺伝子の第4エキソン部分をプ

図2 ヒト $TNF\beta$ 遺伝子の $NcoI$ RFLP

ローブに用いても同一の結果が得られた。G.E. Nedwin ら⁶⁾の報告している塩基配列(図3、4)では、 $TNF\alpha$ 遺伝子の 3'-側と、 $TNF\beta$ 遺伝子の第1イントロンに $NcoI$ の認識配列:-CCATGG-が認められる(図3、4に box で示した)。そこで、この $TNF/NcoI$ RFLP の部分を特定するために、10.5kb 型の遺伝子を持つ細胞(AKIBA)と 5.5kb 型の遺伝子を持つ細胞(HOR)から TNF 遺伝子を含むコスミドクローンを調製し、その解析を行った。

それぞれのコスミドクローンより $TNF\beta$ 遺伝子の $EcoRI$ フラグメント(2.4kb)を得、 $NcoI$ で

図3 ヒト $\text{TNF}\alpha$ 遺伝子の塩基配列 (Nedwin, G.E. et al.⁶⁾)

図3 ヒト $\text{TNF}\alpha$ 遺伝子の塩基配列 (Nedwin, G.E. et al.⁶⁾)

PstI

図4 ヒト TNF β 遺伝子の塩基配列 (Nedwin, G.E. et al.⁶⁾)

バンドに分断された(図5). 図6にそれぞれのコスミドクローンの NcoI, EcoRI および両酵素で処理したあとの電気泳動パターンと, TNF β 遺伝子第4エキソン部分をプローブとしたサザンハイ

図5 ヒト $TNF\beta$ 遺伝子 $EcoRI$ フラグメントの $NcoI$ RFLP

ブリダイゼーションの成績を示した。これらの結果から、 $TNF/NcoI$ RFLP は $TNF\beta$ 遺伝子第1イントロンの $NcoI$ site の有無によるものと考えられた。図6の上部に $NcoI$ および $EcoRI$ での酵素切断図を示した。

G.E. Nedwin ら⁶⁾は $TNF\beta$ 遺伝子/ $NcoI$ 5.5kb 型の、一方、S.A. Nedospasov ら^{5b)}は 10.5kb 型の塩基配列を解析したのと考えられる。

$TNF\beta$ 遺伝子/ $NcoI$ RFLP の日本人集団における頻度をみたところ(表1)約90%のヒトが10.5kb型を保有していた。

潰瘍性大腸炎、クローン病およびSLE患者の成績を表2に示したが、いずれの疾患においても5.5kb型の増加が認められた。

潰瘍性大腸炎やクローン病ではHLA-B5(B51, Bw52)との相関が認められているが、筆者らの成績でも、潰瘍性大腸炎ではBw52を示す患者が約60%(健常人では約20%)、クローン病でも約60%の患者がB51を示した(健常人では約10%)。このように患者群でB51, Bw52の頻度が高いが、約40%の患者はB51, Bw52を有していない。それらの患者について整理したところ、全員 $TNF\beta$

表1 日本人の $TNF\beta$ 遺伝子 $NcoI$ RFLP の頻度分布

$TNF\beta$ - $NcoI$ fragment		
5.5kb	5.5kb & 10.5kb	10.5kb
4	11	23
10.5%	28.9%	60.5%
(n : 38)		

表2 潰瘍性大腸炎(UC), クローン病(CD)およびSLE患者の $TNF\beta$ 遺伝子 $NcoI$ RFLP

	n (%)	$TNF\beta$ - $NcoI$ fragment		
		5.5kb (%)	5.5kb & 10.5kb (%)	10.5kb (%)
normal	38	10.5	28.9	60.5
SLE	22	13.6	40.9	45.5
UC	17	23.5	29.4	47.1
CD	8	0.0	62.5	37.5
Bw52 negative				
normal	28(80.0)	14.3	39.3	46.4
UC	6(37.5)	50.0	50.0	0.0
B51 negative				
normal	32(91.4)	12.5	31.3	56.3
CD	3(37.5)	0.0	100.0	0.0

表3 HLA-B, -DR ハプロタイプと $TNF\beta$ 遺伝子 $NcoI$ RFLP

HLA haplotype -B	-DR	$TNF\beta$ fragment	frequency (n)
7	1	10.5kb	7/ 7
w52	2	10.5kb	17/17
w54	4	10.5kb	10/10
w59	4	10.5kb	2/ 2
44	w13	5.5kb	7/ 7
w46	w 8	5.5kb	8/ 8
w61	9	5.5kb	3/ 4

遺伝子/ $NcoI$ 5.5kb型を有していた。すなわち、潰瘍性大腸炎やクローン病患者では、検討した25例、全例においてHLA-B5あるいは $TNF\beta$ 遺伝子/ $NcoI$ 5.5kb型のいずれかを有していた。

$TNF\beta$ 遺伝子/ $NcoI$ RFLP と HLA 抗原との相関を検討した結果、HLA-B 抗原との相関がみられ、B44, Bw46, Bw60, Bw62に5.5Kb型が多く認められた。HLA ハプロタイプは民族間で偏りのあることが知られているが、日本人に特徴的にみられるHLA-B, -DR ハプロタイプとの相関

図6 AKIBA および HOR 細胞由来 TNF コスミドクローンのサザンハイブリダイゼーションと泳動パターン

を表3に示した。また、第10回国際組織適合性会議の HTC 細胞について検討した結果、民族間での違いが HLA-B と TNF β 遺伝子間にも存在することが確認された。(これらの成績は 1989 年の第25回移植学会、第19回免疫学会および1990年の第11回炎症学会において発表した)。

TNF β 遺伝子/NcoI RFLP と疾患との関連性は、ほかのグループでも検討されている。SLE, RA, Sjögren's syndrome, primary biliary cir-

rhosis, IDDM など多くの疾患で関連性が報告されている^{59~64)}。しかし、これらの報告では多型性部分の特定はなされておらず、TNF α 遺伝子の多型性との報告もみられる^{59~62)}。

その後、G.C. Webb ら、L.J. Abraham ら、および G. Messer らにより TNF β 遺伝子第1イントロンの1塩基変異(図4の1069の G→A)であることが示された^{65~67)}。また、この変異は TNF β 蛋白のN端より26番目のアミノ酸の多型性(図4

の1540のA→Cへの1塩基変異によるAsn→Thrへの変化)と連鎖していることが示された^{66,67)}。このTNF β 蛋白の26番目のアミノ酸の変化が、TNF β の機能にどのように影響しているかはいまだ明らかにされていない(23番までの欠失は、活性に影響しないことが知られている。また、27番までの欠失では活性上昇が、30番までの欠失では、活性低下が認められている)。L.J. Abrahamらは、TNF β 遺伝子の転写開始部分のすぐ後にも1塩基の変異(図4の827のG→A)を認めている⁶⁸⁾。これ以外にもS.A. Nedospasovらは、TNF α/β 遺伝子に11カ所の違いを示しており⁶⁹⁾、その解析が期待される。

TNF β 遺伝子/NcoI RFLPの機能的な役割について、G. Messerらは、TNF β の産生能に対する影響を報告している⁶⁷⁾。TNF β 遺伝子/NcoI 5.5 kb型を有するヒトでは、PHA刺激によるTNF β の産生が亢進しているが、TNF α の産生は変化しないことを示している。

TNF α およびTNF β 遺伝子の3'-非翻訳領域には-TTATTTTAT-配列がみられるが、この配列はIL-1, GM-CSF, IFNなどの遺伝子にもみられる⁶⁸⁾。m-RNAの安定性に関与するとされていたが、最近LPS刺激に対する応答には必要であることが報告されている^{69,70)}。これらサイトカインの炎症性疾患における重要性から、3'-非翻訳領域の解析も今後の課題である。

おわりに

TNFの生物活性に対する最近の話題とTNF β 遺伝子の多型性に関する成績を紹介した。

TNFに関する情報は遺伝子クローニングがなされ、組換え体による精製品が供給されるようになってからはおびただしいものがある。筆者らの検索にかかった1985年以降の主要誌に発表されたものだけでも5,000を優に超えている。本稿ではできるだけ多くの文献を紹介するよう心がけたが、全体からみれば、ごくわずかである。

TNFに関して多くのすぐれた総説がなされており⁷¹⁻⁷⁵⁾、本誌でも、すでに幾度か掲載されている^{76,77)}。それらを参照されたい。

TNF遺伝子の存在するMHCクラスⅢ領域には図1に示したほかにも多くの遺伝子が報告されている⁷⁸⁾。これらのなかにはすでに多型性が認め

られ、疾患との相関がみられている遺伝子もある⁷⁹⁾。また、蛋白移送や抗原提示に関与し、炎症や自己免疫疾患に係わるものとして注目されているHSP70⁸⁰⁾の遺伝子もこの領域にある(図1)。このHSP70遺伝子にも多型性がみられ、Graves' diseaseや、IDDMとの関連が認められている^{81, 82)}。その他、DP遺伝子の45kbセントロメア側にtype XIコラーゲンの α Ⅱ鎖の遺伝子(Col. 11. A2)が座位している⁸³⁾。このコラーゲンは、type Ⅱコラーゲンとともに関節にみられるコラーゲンで、 α 3鎖はtype Ⅱコラーゲン α Ⅰ鎖と同一蛋白であることが知られている(糖鎖は異なる)。このCol. 11. A2にもRFLPが報告されている⁸⁴⁻⁸⁶⁾。HLA-DPや、-DRとRAとの相関が認められていることから、この遺伝子の多型性と疾患との関連が注目される。

HLA抗原と疾患との相関は数多く報告されており、これらHLA遺伝子と複合ハプロタイプを形成していると考えられる遺伝子の解析が病態解明に寄与することを期待している。

本稿中に示した筆者らの成績は、杏林大学第一外科八木田旭邦、同微生物学此枝義記、信州大学法医学太田正穂、京都大学第二内科熊谷俊一、杉田昌彦、東海大学移植免疫センターならびに同移植Ⅱの教職員各氏との共同研究の成果であり、感謝致します。

文 献

- 1) Carswell, E.A., Old, L.J., Kassel, R.L., Green, S., Fiore, N., Williamson, B.: An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72: 3666-3670, 1975.
- 2) Pennica, D., Nedwin, G.E., Hayflick, J.S., Seeburg, P.H., Derynck, R., Palladino, M.A., Kohr, W.J., Aggarwal, B.B., Goeddel, D.V.: Human tumour necrosis factor: precursor-structure, expression and homology to lymphotoxin. Nature 312: 724-729, 1984.
- 3) Beutler, B., Greenwald, D., Hulmes, J.D., Chang, M., Pan, Y.C.E., Mathison, J., Ulevitch, R., Cerami, A.: Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. Nature 316: 552-554, 1985.
- 4) Williams, T.W., Granger, G.A.: Lymphocyte *in vitro* cytotoxicity: lymphotoxins of several mammalian species. Nature 219: 1076-1077, 1968.

- 5) Aggarwal, B.B., Eessalu, T.E., Hass, P.E.: Characterization of receptors for human tumour necrosis factor and their regulation by γ -interferon. *Nature* 318: 665-667, 1985.
- 6) Nedwin, G.E., Naylor, S.L., Sakaguchi, A.Y., Smith, D., Jarrett-Nedwin, J., Pennica, D., Goeddel, D.V., Gray, P.W.: Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucl. Acid Res.* 13: 6361-6373, 1985.
- 7) Perez, C., Albsrt, I., DeFay, K., Zachariades, N., Gooding, L., Krieglner, M.: A nonsecretable cell surface mutant of tumor necrosis factor (TNF) kills by cell-to-cell contact. *Cell* 63: 251-258, 1990.
- 8) Kitahara-Tanabe, N., Tanabe, Y., Morikawa, A., Mizuno, D., Soma, G.: Post-translational processing of tumor necrosis factor production. *Chem. Pharm. Bull.* 39: 417-420, 1991.
- 9) Dinarello, C.A., Cannon, J.G., Wolff, S.M., Bernheim, H.A., Beutler, B., Cerami, A., Figari, I.S., Palladino, M.A. Jr., O'Connor, J.V.: Tumor necrosis factor (cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production of interleukin 1. *J. Exp. Med.* 163: 1433-1450, 1986.
- 10) Butler, D.M., Piccoli, D.S., Hart, P.H., Hamilton, J.A.: Stimulation of human synovial fibroblast DNA synthesis by recombinant human cytokines. *J. Rheumatol.* 15: 1463-1470, 1988.
- 11) Dayer, J-M., Beutler, B., Cerami, A.: Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E_2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *J. Exp. Med.* 162: 2163-2168, 1985.
- 12) Gamble, J.R., Harlan, J.M., Klebanoff, S.J., Vadas, M.A.: Stimulation of the adherence of neutrophils to umbilical vein endothelium by human recombinant tumor necrosis factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 8667-8671, 1985.
- 13) 大山俊郎: 炎症と血管内皮細胞. 炎症 11: 321-328, 1991.
- 14) Matsushima, K., Morishita, K., Yoshimura, T., Lavu, S., Kobayashi, Y., Lew, W., Appella, E., Kung, H.F., Leonard, E.J., Oppenheim, J.J.: Molecular cloning of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF) and the induction of MDNCF mRNA by interleukin 1 and tumor necrosis factor. *J. Exp. Med.* 167: 1883-1893, 1988.
- 15) Zoja, C., Wang, J.M., Bettoni, S., Sironi, M., Renzi, D., Chiaffarino, F., Abboud, H.E., Damme, J.V., Mantovani, A., Remuzzi, G., Rambaldi, A.: Interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α induce gene expression and production of leukocyte chemotactic factors, colony-stimulating factors, and interleukin-6 in human mesangial cells. *Am. J. Pathol.* 138: 991-1003, 1991.
- 16) Camussi, G., Bussolino, F., Salvadio, G., Baglioni, C.: Tumor necrosis factor/cachectin stimulates peritoneal macrophages, polymorphonuclear neutrophils, and vascular endothelial cells to synthesize and release platelet-activating factor. *J. Exp. Med.* 166: 1390-1404, 1987.
- 17) Bertolini, D.R., Nedwin, G.E., Bringman, T.S., Smith, D.D., Mundy, G.R.: Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation *in vitro* by human tumour necrosis factors. *Nature* 319: 516-518, 1986.
- 18) Loetscher, H., Pan, Y-C.E., Lahm, H-W., Gentz, R., Brockhaus, M., Tabuchi, H., Lesslauer, W.: Molecular cloning and expression of the human 55 kd tumor necrosis factor receptor. *Cell* 61: 351-359, 1990.
- 19) Smith, C.A., Davis, T., Anderson, D., Solam, L., Beckmann, M.P., Jerzy, R., Dower, S.K., Cosman, D., Goodwin, R.G.: A receptor for tumor necrosis factor defines an unusual family of cellular and viral proteins. *Science* 248: 1019-1023, 1990.
- 20) Seckinger, P., Isaaz, S., Dayer, J-M.: A human inhibitor of tumor necrosis factor α . *J. Exp. Med.* 167: 1511-1516, 1988.
- 21) Seckinger, P., Vey, E., Turcatti, G., Wingfield, P., Dayer, J-M.: Tumor necrosis factor inhibitor: purification, NH_2 -terminal amino acid sequence and evidence for anti-inflammatory and immunomodulatory activities. *Eur. J. Immunol.* 20: 1167-1174, 1990.
- 22) Porteu, F., Nathan, C.: Shedding of tumor necrosis factor receptors by activated human neutrophils. *J. Exp. Med.* 172: 599-607, 1990.
- 23) Schall, T.J., Lewis, M., Koler, K.J., Lee, A., Rice, G.C., Wong, G.H.W., Gatanaga, T., Granger, G.A., Lentz, R., Raab, H., Kohr, W.J., Goeddel, D.V.: Molecular cloning and expression of a receptor for human tumor necrosis factor. *Cell* 61: 361-370, 1990.
- 24) Yonehara, S., Ishii, A., Yonehara, M.: A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-down-regulated with the receptor of tumor necrosis factor. *J. Exp. Med.* 169: 1747-1756, 1989.
- 25) 米原 伸: TNF レセプターによるシグナル形成. 細胞工学 9: 420-427, 1990.
- 26) Trauth, B.C., Klas, C., Peters, A.M.J., Matzku, S., Möller, P., Falk, W., Debatin, K-M., Krammer, P.H.: Monoclonal antibody-mediated tumor regression by induction of apoptosis. *Science* 245: 301-305, 1989.
- 27) Itoh, N., Yonehara, S., Ishii, A., Yonehara, M., Mizushima, S., Sameshima, M., Hase, A., Seto, Y., Nagata, S.: The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell* 66: 233-243, 1991.

- 28) McIntosh, J.K., Jablons, D.M., Mulé, J.J., Nordan, R.P., Rudikoff, S., Lotze, M.T., Rosenberg, R.P.: *In vivo* induction of IL-6 by administration of exogenous cytokines and detection of *de novo* serum levels of IL-6 in tumor-bearing mice. *J. Immunol.* 143: 162-167, 1989.
- 29) Wakefield, P.E., James, W.D., Samlaska, C.P., Meltzer, M.S.: Tumor necrosis factor. *J. Am. Acad. Dermatol.* 24: 675-685, 1991.
- 30) Martich, G.D., Danner, R.L., Ceska, M., Suffredini, A.F.: Detection of interleukin 8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin: The effect of antiinflammatory agents. *J. Exp. Med.* 173: 1021-1024, 1991.
- 31) Engelhardt, R., Mackensen, A., Galanos, C.: Phase I trial of intravenously administered endotoxin (*Salmonella abortus equi*) in cancer patients. *Cancer Res.* 51: 2524-2530, 1991.
- 32) Chensue, S.W., Terebuh, P.D., Remick, D.G., Scales, W.E., Kunkel, S.L.: *In vivo* biologic and immunohistochemical analysis of interleukin-1 alpha, beta and tumor necrosis factor during experimental endotoxemia. *Am. J. Pathol.* 138: 395-402, 1991.
- 33) Fong, Y., Tracey, K.J., Moldawer, L.L., Hesse, D.G., Manogue, K.B., Kenney, J.S., Lee, A.T., Kuo, G.C., Allison, A.C., Lowry, S.F., Cerami, A.: Antibodies to cachectin/tumor necrosis factor reduce interleukin 1 β and interleukin 6 appearance during lethal bacteremia. *J. Exp. Med.* 170: 1627-1633, 1989.
- 34) Starnes, H.F. Jr., Pearce, M.K., Tewari, A., Yim, J.H., Zou, J.-C., Abrams, J.S.: Anti-IL-6 monoclonal antibodies protect against lethal *Escherichia coli* infection and lethal tumor necrosis factor- α challenge in mice. *J. Immunol.* 145: 4185-4191, 1990.
- 35) Brennan, F.M., Chantry, D., Jackson, A., Maini, R., Feldmann, M.: Inhibitory effect of TNF α antibodies on synovial cell interleukin-1 production in rheumatoid arthritis. *Lancet* 2: 244-247, 1989.
- 36) Beutler, B., Milsark, I.W., Cerami, A.C.: Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science* 229: 869-871, 1985.
- 37) Hinshaw, L.B., Tekamp-Olson, P., Chang, A.C.K., Lee, P.A., Taylor, F.B. Jr., Murray, C.K., Peer, G.T., Emerson, T.E. Jr., Passey, R.B., Kuo, G.C.: Survival of primates in LD₁₀₀ septic shock following therapy with antibody to tumor necrosis factor (TNF α). *Circ. Shock* 30: 279-292, 1990.
- 38) Tetta, C., Camussi, G., Modena, V., Vittorio, C.D., Baglioni, C.: Tumor necrosis factor in serum and synovial fluid of patients with active and severe rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 49: 665-667, 1990.
- 39) Matsubara, T., Furukawa, S., Yabuta, K.: Serum levels of tumor necrosis factor, interleukin 2 receptor, and interferon- γ in Kawasaki disease involved coronary-artery lesions. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 56: 29-36, 1990.
- 40) Murch, S., Walker-Smith, J.A.: Crohn's disease. *Arch. Dis. Child* 66: 561, 1991.
- 41) Akoğlu, T., Direskeneli, H., Yazici, H., Lawrence, R.: TNF, soluble IL-2R and soluble CD-8 in Behçet's disease. *J. Rheumatol.* 17: 1107-1108, 1990.
- 42) Maury, C.P.J., Teppo, A.-M.: Tumor necrosis factor in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 32: 146-150, 1989.
- 43) Mooradian, A.D., Reed, R.L., Meredith, K.E., Scuderi, P.: Serum levels of tumor necrosis factor and IL-1 α and IL-1 β in diabetic patients. *Diabetes Care* 14: 63-65, 1991.
- 44) Sachs, J.A., Whichelow, C.E., Hitman, G.A., Niven, M., Thode, H., Meager, A.: The effect of HLA and insulin-dependent diabetes mellitus on the secretion levels of tumour necrosis factors alpha and beta and gamma interferon. *Scand. J. Immunol.* 32: 703-708, 1990.
- 45) Held, W., MacDonald, H.R., Weissman, I.L., Hess, M.W.: Genes encoding tumor necrosis factor α and granzyme A are expressed during development of autoimmune diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 2239-2243, 1990.
- 46) Jiang, Z., Woda, B.A.: Cytokine gene expression in islets of the diabetic Biobreeding/Worcester rat. *J. Immunol.* 146: 2990-2994, 1991.
- 47) Imagawa, D.K., Millis, J.M., Seu, P., Olthoff, K.M., Hart, J., Wasef, E., Dempsey, R.A., Stephens, S., Busuttil, R.W.: The role of tumor necrosis factor in allograft rejection. *Transplantation* 51: 57-62, 1991.
- 48) Ruddle, N.H., Bergman, C.M., McGrath, K.M., Lingenheld, E.G., Grunnet, M.L., Padula, S.J., Clark, R.B.: An antibody to lymphotoxin and tumor necrosis factor prevents transfer of experimental allergic encephalomyelitis. *J. Exp. Med.* 172: 1193-1200, 1990.
- 49) Folks, T.M., Clouse, K.A., Justement, J., Rabson, A., Duh, E., Kehrl, J.H., Fauci, A.S.: Tumor necrosis factor α induces expression of human immunodeficiency virus in a chronically infected T-cell clone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2365-2368, 1989.
- 50) Domke-Opitz, I., Kirchner, H.: Stimulation of macrophages by endotoxin results in the reactivation of a persistent herpes simplex virus infection. *Scand. J. Immunol.* 32: 69-75, 1990.
- 51) Awdeh, Z.L., Raum, D., Yunis, E.J., Alper, C.A.: Extended HLA/complement allele haplo-

- types: Evidence for T/t-like complex in man. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 259-263, 1983.
- 52) 笹月健彦: HLA と疾病, 代謝 23: 233-238, 1986.
 - 53) Jacob, C.O., McDevitt, H.O.: Tumor necrosis factor- α in murine autoimmune 'lupus' nephritis. *Nature* 331: 356-358, 1988.
 - 54) Boswell, J.M., Yui, M.A., Burt, D.W., Kelley, V.K.: Increased tumor necrosis factor and IL-1 β gene expression in the kidneys of mice with lupus nephritis. *J. Immunol.* 141: 3050-3054, 1988.
 - 55) Richter, G., Qin, Z., Diamantstein, T., Blankenstein, T.: Analysis of restriction fragment length polymorphism in lymphokine genes of normal and autoimmune mice. *J. Exp. Med.* 170: 1439-1443, 1989.
 - 56) Nedospasov, S.A., Shakhov, A.N., Turetskaya, R.L., Mett, V.A., Azizov, M.M., Georgiev, G.P., Korobko, V.G., Dobrynin, V.N., Filipov, S.A., Bystrov, N.S., Boldyreva, E.F., Chuvpilo, S.A., Chumakov, A.M., Shingarova, L.N., Ovchinnikov, Y.A.: Tandem arrangement of genes coding for tumor necrosis factor (TNF- α) and lymphotoxin (TNF- β) in the human genome. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 51: 611-624, 1986.
 - 57) Choo, S.Y., Spies, T., Strominger, J.L., Hansen, J.A.: Polymorphism in the tumor necrosis factor gene: Association with HLA-B and DR haplotypes. *Human. Immunol.* 23: 86, 1988.
 - 58) 徳永勝士, 十字猛夫: 日本人の HLA 分布. *日本臨床* 48: 489-493, 1990.
 - 59) Fugger, L., Morling, N., Ryder, L.P., Georgsen, J., Jakobsen, B.K., Svejgaard, A., Andersen, V., Oxholm, P., Pedersen, F.K., Friis, J., Halberg, P.: NcoI restriction fragment length polymorphism (RFLP) of the tumor necrosis factor (TNF α) region in four autoimmune diseases. *Tissue Antigen* 34: 17-22, 1989.
 - 60) Fugger, L., Morling, N., Ryder, L.P., Platz, P., Georgsen, J., Jakobsen, B.K., Svejgaard, A., Dalhoff, K., Ranek, L.: NcoI restriction fragment length polymorphism (RFLP) of the tumour necrosis factor (TNF α) region in primary biliary cirrhosis and in healthy danes. *Scand. J. Immunol.* 30: 185-189, 1989.
 - 61) Badenhoop, K., Schwarz, G., Bingley, P., Trowsdale, J., Usadel, K.H., Gale, E.A.M., Bottazzo, G.F.: TNF- α gene polymorphisms: Association with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *J. Immunogenetics* 16: 455-460, 1990.
 - 62) Badenhoop, K., Schwarz, G., Trowsdale, J., Lewis, V., Usadel, K.H., Gale, E.A.M., Bottazzo, G.F.: TNF- α gene polymorphisms in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 32: 445-448, 1989.
 - 63) Dawkins, R.L., Leaver, A., Cameron, P.U., Martin, E., Kay, P.H., Christiansen, F.T.: Some disease-associated ancestral haplotypes carry a polymorphism of TNF. *Hum. Immunol.* 26: 91-97, 1989.
 - 64) Jacob, C.O., Fronck, Z., Lewis, G.D., Koo, M., Hansen, J.A., McDevitt, H.O.: Heritable major histocompatibility complex class II-associated differences in production of tumor necrosis factor α : Relevance to genetic predisposition to systemic lupus erythematosus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 1233-1237, 1990.
 - 65) Webb, G.C., Chaplin, D.D.: Genetic variability at the human tumor necrosis factor loci. *J. Immunol.* 145: 1278-1285, 1990.
 - 66) Abraham, L.J., Du, D.C., Zahedi, K., Dawkins, R.L., Whitehead, A.S.: Haplotypic polymorphisms of the TNFB gene. *Immunogenetics* 33: 50-53, 1991.
 - 67) Messer, G., Spengler, U., Jung, M.C., Honold, G., Blömer, K., Pape, G.R., Riethmüller, G., Weiss, E.H.: Polymorphic structure of the tumor necrosis factor (TNF) locus: An NcoI polymorphism in the first intron of the human TNF- β gene correlates with a variant amino acid in position 26 and a reduced level of TNF- β production. *J. Exp. Med.* 173: 209-219, 1991.
 - 68) Caput, D., Beutler, B., Hartog, K., Thayer, R., Brown-Shimer, S., Cerami, A.: Identification of a common nucleotide sequence in the 3'-untranslated region of mRNA molecules specifying inflammatory mediators. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 1670-1674, 1986.
 - 69) Han, J., Brown, T., Beutler, B.: Endotoxin-responsive sequences control cachectin/tumor necrosis factor biosynthesis at the translational level. *J. Exp. Med.* 171: 465-475, 1990.
 - 70) Han, J., Huez, G., Beutler, B.: Interactive effects of the tumor necrosis factor promoter and 3'-untranslated regions. *J. Immunol.* 146: 1843-1848, 1991.
 - 71) Beutler, B., Cerami, A.: The biology of cachectin/TNF—A primary mediator of the host response. *Ann. Rev. Immunol.* 7: 625-655, 1989.
 - 72) Beutler, B.: Tumor necrosis, cachexia, shock, and inflammation: A common mediator. *Ann. Rev. Biochem.* 57: 505-518, 1988.
 - 73) Beutler, B.: TNF in pathophysiology: Biosynthetic regulation. *J. Invest. Dermatol.* 95: 81S-84S, 1990.
 - 74) Vilcèk, J., Lee, T.H.: Tumor necrosis factor. *J. Biol. Chem.* 266: 7313-7316, 1991.
 - 75) 漆崎一朗: TNF/cachectin の生物活性と尿・血清中の TNF 結合蛋白の意義. *Biotherapy* 5: 79-87, 1991.
 - 76) 山崎正利: tumor necrosis factor と炎症サーキット. *炎症* 10: 163-170, 1990.
 - 77) 笠倉新平: 炎症とサイトカイン. *炎症* 10: 9-23,

- 1990.
- 78) Kendall, E., Sargent, C.A., Campbell, R.D.: Human major histocompatibility complex contains a new cluster of genes between the HLA-D and complement C4 loci. *Nucl. Acid Res.* 18: 7251-7257, 1990.
 - 79) Fugger, L., Morling, N., Ryder, L.P., Jakobsen, B.K., Andersen, V., Oxholm, P., Dalhoff, K., Heilmann, C., Pedersen, F.K., Friis, J., Halberg, P., Spies, T., Strominger, J.L., Svejgaard, A.: Restriction fragment length polymorphism of two HLA-B-associated transcripts genes in five autoimmune diseases. *Hum. Immunol.* 30: 27-31, 1991.
 - 80) Winrow, V.R., McLean, L., Morris, C.J., Blake, D.R.: The heat shock protein response and its role in inflammatory disease. *Ann. Rheum. Dis.* 49: 128-132, 1990.
 - 81) Ratanachaiyavong, S., Demaine, A.G., Campbell, R.D., McGregor, A.M.: Heat shock protein 70 (HSP70) and complement C4 genotypes in patients with hyperthyroid Graves' disease. *Clin. Exp. Immunol.* 84: 48-52, 1991.
 - 82) Caplen, N.J., Patel, A., Millward, A., Campbell, R.D., Ratanachaiyavong, S., Wong, F.S., Demaine, A.G.: Complement C4 and heat shock protein 70 (HSP70) genotypes and type I diabetes mellitus. *Immunogenetics* 32: 427-430, 1990.
 - 83) Hanson, I.M., Gorman, P., Lui, V.C.H., Cheah, K.S.E., Solomon, E., Trowsdale, J.: The human $\alpha 2$ (XI) collagen gene (COL11A2) maps to the centromeric border of the major histocompatibility complex on chromosome 6. *Genomics* 5: 925-931, 1989.
 - 84) Cheah, K.S.E., Pui, M.S., Lui, V.C.H., Wong, L., Hsu, L.C.S., Pun, K.K., Priestley, L.M., Sykes, B.C.: An EcoRI RFLP in the human $\alpha 2$ (XI) (COL11A2) gene. *Nucl. Acid Res.* 18: 387, 1990.
 - 85) Cheah, K.S.E., Lui, V.C.H., Hsu, L.C.S.: A StuI RFLP in the human COL11A2 gene. *Nucl. Acid Res.* 18: 4964, 1990.
 - 86) Priestley, L.M., Sykes, B.C., Cheah, K.S.E.: A BamHI RFLP in the human $\alpha 2$ (XI) (COL11A2) gene. *Nucl. Acid Res.* 18: 689, 1990.

*

*

*