炎症性サイトカインの *in vivo* における 作用とその産生制御

——ラット胸膜炎モデルを用いた検討——

宇都宮 郁*

review article

JAPANESE JOURNAL OF INFLAMMATION

Role of proinflammatory cytokines in vivo: Study using rat pleurisy model

To assess roles of cytokines in the inflammatory process, we examined local production of proinflammatory cytokines such as tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1 (IL-1), IL-6 and cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1 (CINC-1, a member of the CXC chemokine in rats), in the exudates of carrageenin-induced pleurisy of rats. All four cytokine levels began to increase at 1-2h, and their production preceded the influx of neutrophils, and peaked at 3-5h, whereas the exudate volume and leukocyte number still continued to increase. When recombinant human (rh) TNF α or rhIL-1 α was injected into the pleural cavity, the pleural CINC-1 level rapidly increased, preceding the neutrophil infiltration. A sharp rise in IL-6 level in the plasma, followed by an increase in T-kininogen, an acute-phase protein, was also observed. Intrapleural injection of rhIL-8 or CINC-1 caused neutrophil infiltration in a protein synthesis independent manner.

Treatment with indomethacin, an anti-inflammatory drug, increased TNF and IL-1 levels but suppressed IL-6 level in the exudate of rats with pleurisy, whereas dexamethasone suppressed all these cytokine levels. Prostaglandins (PGs) and dibutyl cAMP reduced the production of TNF and IL-1, while they increased that of IL-6 and CINC-1 from rat pleural resident cells. The above results clearly indicate that proinflammatory cytokines, TNF, IL-1, IL-6 and CINC-1 were produced locally. Moreover, these results suggest that these proinflammatory cytokine production could be regulated by inflammatory stimuli and also by other mediators such as PGE₂ and PGI₂ concomitantly produced in the inflammatory sites.

Rec.2/9/1998, pp105~115

Iku Utsunomiya*

key words : TNF, IL-1, IL-6, CINC, pleurisy

急性炎症時には局所での血管透過性亢進や白血球浸潤が観察され、また全身反応としては発熱や急性期蛋白とよばれる一連の血漿蛋白の増加が認められる¹⁾。これらの反応の成立に、ヒスタミンや

キニン、アラキドン酸代謝物、血小板活性化因子、補体、そしてサイトカインなどの炎症性メディエーターが関与することは周知のとおりである。なかでもサイトカインは比較的新しく発見されたメディエーターであるが、これは各種の細胞が産生する生体調節機構に関与する細胞間相互作用を担う分泌蛋白質の総称である。この10年の遺伝子工学や分子生物学の進歩に伴って多くのサイトカインとその受容体がクローニングされてきた。

* Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Kitasato University 北里大学薬学部薬理学教室

Offprint requests to : Iku Utsunomiya, Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Kitasato University, 5-9-1 Shirokane, Minato-ku, Tokyo 108-8641, Japan

表 1 *In vivo* activities of TNF and IL-1

発熱
徐波睡眠の誘導
食欲不振
CRF, ACTH の分泌増加
他のメディエーター産生 (PG, NO, IL-6, IL-8 など) の誘導
急性期蛋白の合成促進
血管内皮細胞上の接着分子の発現亢進
末梢血液中の好中球数の増加
白血球浸潤
骨吸収の促進

表 2 CXC chemokines

ヒト	マウス	ラット
IL-8	?	?
GRO- α	MIP-2	CINC-1
GRO- β		CINC-2 α
GRO- γ		CINC-2 β
		CINC-3 (ratMIP-2)
PF4	?	PF4
IP-10	CRG-2	?
MIG	MIG	?
SDF-1	SDF-1	?

サイトカインの作用の特徴としては一つのサイトカインが複数の作用を有する多様性と、複数のサイトカインが同一の作用を有する重複性があげられ、複雑なサイトカインネットワークを形成している。しかし新しいサイトカインや受容体が発見されつづける一方で、いくつかのサイトカインでは受容体を形成する分子を共有する機構が明らかとなり、サイトカインの複雑な作用を整理、統合して説明できるようにもなりつつある²⁾。

炎症性サイトカインとして代表的なものには tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-8 などがある。これらのうち好中球遊走因子として精製された IL-8 以外は、TNF は腫瘍壊死因子、IL-1 はリンパ球活性化因子、IL-6 は抗体産生を誘導する因子というように当初は免疫系に作用する因子として発見された。その後種々の細胞に対するさまざまな作用が *in vitro* で証明されたため、後述するような炎症性メディエーターとして認識されるようになった。しかしながらこれらの炎症性サイトカインを *in vivo* で、すなわち炎症の現場で測定し、その役割を検討した研究は少ない。

筆者らの研究室ではサイトカインに着目する以前より、ラット胸膜炎を用いて炎症反応に関与するメディエーターの解析を行ってきた³⁾。このモデルはラット足浮腫と同様に薬物の抗炎症作用をスクリーニングするために用いられてきたが、足浮腫モデルでは産生されている活性物質を同定するためには組織をホモジナイズなどしなければならぬのに対し、胸膜炎モデルでは局所の反応が

胸腔壁で隔てられているために血液や組織液の混入なしに滲出液を採取することができる。したがって滲出液量や浸潤白血球数はもとより、メディエーターの定量的な解析に適しており、また局所と全身の反応の関係を調べるのにも有用である。

本総説ではサイトカインの *in vivo* での作用とその産生制御について、サイトカインによる好中球浸潤に焦点を当てた平成 9 年度日本炎症学会奨励賞受賞論文⁴⁾の内容を含め、筆者らの研究を中心に概説したい。

炎症性サイトカイン

TNF は 1975 年に Meth A 肉腫の出血性壊死を引き起こす因子として発見された⁵⁾。現在ではこの作用は apoptosis として知られている。一方、1970 年代にリンパ球に対する活性化因子 (lymphocyte-activating factor) が発見されたが、これはさらに古くから報告のあった蛋白性の内因性発熱物質 (endogenous pyrogen) と同一のものであることが明らかとなり、IL-1 とよばれることになった⁶⁾。TNF と IL-1 はその構造およびそれぞれに対する受容体がまったく異なるにもかかわらず非常に類似した生物活性を示す⁷⁾。現在それぞれの受容体から転写因子 NF- κ B の活性化に至る細胞内シグナル伝達の研究が進み、両者のシグナルの合流点が明らかになりつつある⁸⁾。

表 1 には TNF と IL-1 の *in vivo* における共通の活性をまとめた。このように両者は prostaglandin (PG), 他のサイトカイン, 接着分子などの

図 1 Time courses of exudate accumulation and neutrophil migration(A), and those of TNF, IL-1, IL-6 and CINC-1 levels in the exudate(B) during carrageenin-induced pleurisy in rats

Rats received the intrapleural injection of 0.1 ml of 2% carrageenin. The activities of TNF(●), IL-1(○) and IL-6(■) were expressed as units and CINC-1 level(△) as ng. The values are expressed as means±SE of 5-10 rats.

誘導を通して発熱，急性期蛋白の合成促進，白血球浸潤などの炎症反応の成立に大きく寄与している。

IL-6 もまた多機能性サイトカインの代表としてあげられる⁹⁾。これは活性化B細胞に抗体産生を誘導する因子として1985年に平野らにより精製された。その後，肝細胞からの急性期蛋白の合成促進，巨核球の成熟による血小板数の増加，ミエロマ細胞の増殖など種々の作用が明らかとなった。

IL-6 の受容体は IL-6 receptor α 鎖と gp 130 から成るが，この gp 130 を共有するサイトカインとして現在までに IL-11, oncostatin M, leukemia inhibitory factor(LIF), ciliary neurotrophic factor(CNTF), cardiotrophin-1 が知られており，これらは IL-6 ファミリーともよばれる¹⁰⁾。gp 130 の発見は IL-2 receptor γ 鎖や IL-3, IL-5, GM-CSF receptor β 鎖とともに，サイトカインの作用の重複性を説明するのに大きな貢献をした。現在 IL-6 のシグナル伝達についても JAK-STAT 経路を中心に詳細な解析が進んでいる¹⁰⁾。

IL-8 は従来より知られていた C5a, LTB₄, fMLP, PAF などとは異なる好中球遊走因子として1987年に松島らのグループにより精製，クロー

ニングされた¹¹⁾。また同グループにより単球特異的な遊走因子 MCP-1 も発見され¹²⁾，その後の研究から多くの白血球遊走因子が巨大なファミリーを形成していることが明らかとなり，現在ではこれらをケモカイン(chemokine)と総称している。ケモカインの詳細と，抗 IL-8 抗体，抗 MCP-1 抗体による炎症制御については和田らの昨年の総説などを参照されたい^{13~15)}。ここではヒト，マウス，ラットの IL-8 ファミリー(CXC chemokines)について表2にまとめた。マウス，ラットにおいては代表的な CXC chemokine である IL-8 はこれまでに発見されていない。

1989年に渡辺らはラット腎臓の上皮細胞株を IL-1 で刺激した培養上清より，好中球遊走因子(cytokine-induced neutrophil chemoattractant: CINC)を精製した¹⁶⁾。現在までに CINC-1, CINC-2 α , CINC-2 β , CINC-3 の4種が報告されており¹⁷⁾，これらはヒトの GRO にもっとも相関性が高いが，4種の CINC がどの GRO(α , β , γ)に対応するのかは不明である。

ラット胸膜炎における炎症性サイトカイン

ヒトの慢性関節リウマチ患者の関節液中には高濃度の TNF, IL-1, IL-6, IL-8 が存在し¹⁸⁾，マウスの腹膜炎モデルにおいては腹水中に IL-1 が検

出され¹⁹⁾, 炎症の進展における炎症性サイトカインの関与が示唆されている。

筆者らはラット・カラゲニン胸膜炎モデルを用いて滲出液中のサイトカインの動態を解析した。胸膜炎は2%カラゲニンを0.1 ml/ratとして右胸腔内に投与することにより惹起した。TNF, IL-1, IL-6はバイオアッセイにより, CINC-1はELISAにより測定した。図1に示すように胸腔滲出液量および浸潤好中球数は16時間後に最大となったが, 炎症性サイトカインは1~2時間後から増加し, TNFは3時間後, IL-1とCINC-1は4時間後, IL-6は5時間後にそれぞれ最大値を示した。これら炎症性サイトカインの産生が炎症反応のピークに先行していることから, サイトカインがそれ自身あるいはアラキドン酸代謝物をはじめとする他のメディエーターを誘導することによって炎症の進展に寄与することが示唆された。事実, このモデルにおいてサイトカインが出現するのとはほぼ同じ時間帯にPGE₂, PGI₂, キニンなどが検出されている³⁾。

また *in vitro* での多くの報告からTNFがIL-1を誘導し, この両者がIL-6やIL-8を誘導することがすでに証明されているが, *in vivo* においてもそれらの経路が含まれていることが示唆された。これらのサイトカインの主な産生細胞はマクロファージであると考えられているが, 炎症の現場では絶えず浸潤してくる好中球もサイトカインの重要な供給源であると思われる²⁰⁾。

TNFとIL-1によるIL-6と急性期蛋白の誘導

TNFとIL-1がIL-6を誘導することは *in vitro*, *in vivo* において実証されている^{9,21)}。急性期蛋白の合成を促進させる因子としては, IL-6の発見以前にはTNFとIL-1が考えられていたが, 現在では大部分の急性期蛋白はIL-6によって直接誘導されることが明らかとなっている²²⁾。

筆者らはIL-1のラット胸腔内投与によるIL-6と急性期蛋白の誘導について検討した。IL-1投与後, 血漿中には1時間後を最大とする一過性のIL-6の誘導が認められた²³⁾(図2)。また急性期蛋白の一つであるT-kininogen²⁴⁾レベルはIL-6よ

図2 Time courses of plasma levels of IL-6 and T-kininogen in rats after intrapleural injection of carrageenin (A) or recombinant human (rh) IL-1α (4.5 μg) (B)

The values are expressed as means ± SE. A significant ($p < 0.01$) increase in T-kininogen level induced by rhIL-1α above that induced by carrageenin was observed at 8h.

り遅れて8時間後より上昇した。一方カラゲニン胸膜炎の場合にはIL-6のピークは4時間後であり, T-kininogenも8時間後ではまだ低値であり16時間後になって増加した。このようにIL-1投与の場合のほうがカラゲニン投与の場合に比べてIL-6の増加のパターンがちょうど3時間ほど早くシフトしていることは, カラゲニン胸膜炎の滲出液中のIL-1が3~4時間後に増加することと考え合わせると(図1), 内因性のIL-1によるIL-6の誘導を示唆しており興味深い。

筆者らはさらに肝細胞からのT-kininogen産生を誘導する因子がIL-1ではなく, IL-6であることを明らかにした²³⁾。したがって炎症局所で産生されたIL-1が血中においてIL-6を誘導し, そのIL-6が肝臓で急性期蛋白の産生を促進させるというメディエーターのリレーが示された。TNFによる *in vivo* での急性期蛋白の誘導についてはほとんど報告がないが, 筆者らはTNFの胸腔内

図3 Time courses of the number of leukocytes(A, B) and neutrophils(C, D) in the pleural cavity elicited by intrapleural injection of CINC-1(A, C) at doses of 0.1 μg ($\blacktriangle$), 0.3 μg ($\bullet$), and 1 μg ($\circ$) and rhIL-8(B, D) at doses of 0.2 μg ($\blacktriangle$), 1 μg ($\bullet$), and 5 μg ($\circ$)

The values are expressed as means $\pm$ SE of 4-5 rats except rhIL-8 5 μg (n=11-14), rhIL-8 1 μg (n=3) and 0 h control (n=8).

投与の場合にも同様の結果を得ている²⁵⁾。

ケモカインによる好中球遊走

IL-8 と CINC-1 の *in vivo* における好中球遊走活性はウサギ²⁶⁾とラット²⁷⁾でそれぞれ証明されている。筆者らはこの2種のケモカインをラットの胸腔内に投与することによって好中球遊走活性を比較した⁴⁾。正常ラットの胸腔内には好中球はほとんど認められないが、CINC-1 または IL-8 を投与することによって1時間後より胸腔内への好中球浸潤が観察され、3~5時間後にその数は最大となった(図3)。これらの反応は用量依存的であり、8時間後までは好中球特異的であった。CINC-1 (1 μg) によって遊走してくる好中球数が IL-8 (5 μg) によるそれよりも多いことから CINC-1 の作用が強いといえるが、これはラットを用いたためかもしれない。またカラゲニン胸膜

炎の滲出液中の CINC-1 が最大で 400 ng 以上に達していることから(図1)、内因性の CINC-1 が胸膜炎の好中球浸潤に十分関与することが推測される。なお IL-8 をマウスに投与すると、血中の好中球数が増加することが報告されているが²⁸⁾、筆者らのラットのモデルでは有意な変化は認められなかった。

TNF と IL-1 による好中球遊走

IL-8 が発見されるまでは TNF や IL-1 が好中球遊走因子ではないかと考えられていた。事実 TNF や IL-1 は *in vivo* では局所に好中球浸潤を起こす^{29,30)}。ラット胸腔内に TNF, IL-1 を投与した場合にも好中球が遊走してきたが、その反応は CINC-1 や IL-8 に比べるとやや遅く、また3時間後における用量反応曲線はベル型となった(図4)。さらに血中では用量依存的な白血球数の減少

图 4 剂量-反应 of 的 infiltration 的 leukocytes (●) and neutrophils (○) into the pleural cavity (A, B) and leukopenia (C, D) by intrapleural injection of rhTNF α (A, C) and rhIL-1 α (B, D) at 3h. The group shown as dose 0 received intrapleural injection of saline. The values are expressed as means $\pm$ SE of 4 rats. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ vs dose 0 group by multiple comparison of Dunnett's t test.

图 5 Effect of actinomycin D on cytokine-induced neutrophil accumulation (A), and rhTNF α - and rhIL-1 α -induced CINC-1 production (B) in the pleural cavity. Actinomycin D at a dose of 1 or 10 μg was injected concomitantly with rhTNF α (0.67 μg), rhIL-1 α (0.45 μg), rhIL-8 (5 μg) or CINC-1 (1 μg). Panel A shows the number of leukocytes (open + solid column) and neutrophils (solid column) at 3h. In panel B, column types are defined as follows: open column, actinomycin D dose 0; hatched column, 1 μg ; stippled column, 10 μg . The values are expressed as means $\pm$ SE of 4 rats. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ vs cytokine alone (actinomycin D dose 0) by multiple comparison with Dunnett's t test.

図 6 Effects of indomethacin and dexamethasone on exudate formation (left) and leukocyte migration (right) (upper panel), and TNF (left), IL-1 (middle), and IL-6 (right) levels (bottom panel) in the exudates during carrageenin induced pleurisy at 3h

Indomethacin (IND, 1 or 10 mg/kg) or dexamethasone (DEX, 0.5 mg/kg) was injected intraperitoneally 30 min or 3h, respectively, before the carrageenin injection. The values are expressed as means $\pm$ SE. * and ** show significant difference at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, when compared with the control value.

が認められた。これはエンドトキシンショック時にみられる血圧低下などに伴った現象であり、ウサギにおいて TNF と IL-1 がその主なメディエーターであることが明らかとなっている³¹⁾。

ラット胸腔内に高用量の TNF または IL-1 を投与した場合の時間経過を調べたところ、3 時間後に白血球数が最少となる一過性の leukopenia を起こし、その後白血球数は増加に転じた (未発表データ)。おそらく TNF や IL-1 によって血管内皮細胞上に ICAM-1 や E-selectin などの接着分子が発現し³²⁾、好中球が血管内皮上に一時的にト

ラップされるために組織への浸潤も阻害されるのであろう。

TNF と IL-1 による CINC-1 の誘導

TNF と IL-1 による *in vivo* での好中球遊走作用には新たな蛋白合成を必要とすることが、ウサギの皮内への投与により報告されている³³⁾。TNF と IL-1 はおそらく *in vivo* では内因性のケモカインを誘導することにより好中球遊走活性を示すことが予想されたため、ラット胸腔内に TNF または IL-1 とともに RNA 合成を阻害するアクチ

図7 Effects of PGs on the cytokine production of rat resident cells in response to LPS and enhancing effect of pentoxifylline

Pleural resident cells were cultured for 24h with LPS(10 μ g/ml) plus 1 μ M PGE₁ (E₁), PGE₂ (E₂), PGI₂ (I₂), SM-10906(SM) or 100 μ M dibutyryl cAMP(BC) in the presence or absence of pentoxifylline(0.5 mM). TNF(A), IL-1(B), IL-6(C) and CINC-1(D) in the supernatant were then assayed, and expressed as means $\pm$ SE of 3 samples. Column types are defined as follows: open column, medium only; dark hatched column, medium plus pentoxifylline(0.5 mM); hatched column, LPS; black column, LPS plus pentoxifylline(0.5 mM). * and ** indicate significant differences from the value of the group incubated with LPS alone at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively. # and ## indicate significant differences at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, from the value of the group incubated with LPS and pentoxifylline alone.

ノマイシンDを投与して好中球浸潤に対する影響を検討した。

その結果, TNF と IL-1 による好中球浸潤はアクチノマイシンDにより用量依存的に, かつほぼ完全に抑制されたが, IL-8 と CINC-1 によるそれはまったく抑制されなかった(図5)。筆者らはすでにデキサメタゾンによっても TNF と IL-1 による好中球遊走が抑制されることを報告している³⁴⁾。これらの事実は, IL-8 や CINC-1 が直接好中球を遊走させることができるのに対し, TNF

と IL-1 はこれらケモカインを含む新たな蛋白性の因子を誘導することによってその作用を発揮することを示唆している。

そこで胸腔内の CINC-1 を測定したところ, TNF と IL-1 投与後1時間において CINC-1 レベルの上昇が認められたが(図5), IL-8 による CINC-1 の誘導は認められなかった⁴⁾。また TNF と IL-1 によって誘導された CINC-1 の産生は, 好中球浸潤の場合と同様にアクチノマイシンDによってほぼ完全に抑制された(図5)。以上より

ラットにおいてはTNFとIL-1による*in vivo*での好中球遊走には少なくとも一部はCINC-1が関与することが示された。

サイトカイン産生に対する抗炎症薬の効果

サイトカインの産生を調節する因子や薬剤は*in vitro*でいくつか知られているが²⁾, *in vivo*での研究は少ない。筆者らはラット胸膜炎モデルを用いて抗炎症薬による炎症局所でのサイトカインレベルの変化をはじめて明らかにした。カラゲニン胸膜炎において、抗炎症薬のインドメタシン、デキサメタゾンの前投与を行うと、滲出液貯留や白血球浸潤は有意に抑制される(図6)。このときのサイトカイン産生への影響をみると、デキサメタゾンによってはすべてのサイトカイン産生が抑制されたが、インドメタシンによってはTNF, IL-1の産生は用量依存的に増加し、IL-6産生は抑制された。

このことから滲出液中のサイトカイン産生に対して、共存するPGE₂による制御がある可能性が示唆されたので、胸腔内の常在細胞にPGE₂を添加して培養後そのサイトカイン産生を調べた結果、lipopolysaccharide(LPS)刺激によるTNF, IL-1産生は抑制され、IL-6産生は増強された³⁵⁾。これらの結果は、胸腔内に増加したTNF, IL-1によるIL-6の産生促進作用よりも、インドメタシンによるPGE₂産生の抑制を介したIL-6産生抑制作用のほうが強いことを示している。

サイトカイン産生制御におけるcAMPの関与

筆者らはさらにサイトカイン産生に対するPGとcAMPの影響について検討を加えた。PGE, PGI₂の安定誘導体SM-10906, dibutyryl cAMPを胸腔常在細胞に添加して培養すると、LPSによるTNF, IL-1産生は抑制され、IL-6, CINC-1産生は増強される傾向にあった(図7)。さらにホスホジエステラーゼインヒビターであるpentoxifyllineの存在下でこれらの作用はさらに増強された。このときの細胞内cAMP量とTNF, IL-1産生量との間には逆相関が、cAMP量とIL-6, CINC-1産生量との間には正の相関が認められ

図8 Regulatory mechanism of cytokine production

た³⁶⁾。

これらの結果はPGによるサイトカイン産生の制御にcAMPを介するシグナル伝達経路が関与することを示している。他の研究グループからも同様の報告があり³⁷⁻³⁹⁾, 現在ではサイトカイン遺伝子のpromoter上にあるcAMP responsive element(CRE)に結合する転写因子CRE binding protein(CREB)⁴⁰⁾の役割が注目されるところであるが、NF- κ Bとの相互作用を含めた詳細な解析は今後の課題であると考えられる。

またPGE₂はIL-10を介してIL-6の産生を抑制するという報告もあり⁴¹⁾, 別の制御経路があるのかもしれない。図8には筆者らの実験結果から得られたアラキドン酸代謝経路と炎症性サイトカインの関係についてまとめた。*In vivo*においてもこれらの炎症性メディエーターが確かに相互作用していると考えられる。

おわりに

ラット胸膜炎を用いて炎症性サイトカインの急性炎症反応における役割と、サイトカインによるサイトカインの誘導や他のメディエーターとの相互作用について概説した。また炎症巣でのサイトカイン産生の制御因子としてPGを取り上げた。現在ケモカインのメンバーが急速に増加しつつある⁴²⁾。このモデルは今後これらを含めた新しい活性物質の*in vivo*での役割や相互作用、産生制御を解析するために、役立つ実験系であると考えられる。

最後に、本研究にご協力いただきましたサイトシグナル研究所 鶴藤 丞先生、渡辺一義先生、東京大学医学部衛生学教室 松島綱治先生に感謝致します。また本研究のご指導と本稿のご校閲を賜りました北里大学薬学部薬理学教室 大石幸子先生に深謝致します。

文 献

- Moviat HZ : The Inflammatory Reaction. Elsevier, Amsterdam, 1985.
- サイトカインのすべて、臨床免疫 27(Suppl. 16), 1995.
- 大石幸子：炎症反応に関するメディエーターの解析—ラット胸膜炎を用いて—、日薬理誌 110 : 59-67, 1997.
- Utsunomiya I, Ito M, Watanabe K, Tsurufuji S, Matsushima K, Oh-ishi S : Infiltration of neutrophils by intrapleural injection of tumour necrosis factor, interleukin-1, and interleukin-8 in rats, and its modification by actinomycin D. Br. J. Pharmacol. 117 : 611-614, 1996.
- Aggarwal BB, Vilček J : Tumor necrosis factors : structure, function, and mechanism of action. Marcel Dekker, Inc., New York, 1992.
- Dinarello CA : Biologic basis for interleukin-1 in disease. Blood 87 : 2095-2147, 1996.
- Le J, Vilček J : Tumor necrosis factor and interleukin 1 : cytokines with multiple overlapping biological activities. Lab. Invest. 56 : 234-248, 1987.
- Stancovski I, Baltimore D : NF- κ B activation : the I κ B kinase revealed? Cell 91 : 299-302, 1997.
- Hirano T, Kishimoto T : Interleukin-6. In Handbook of experimental pharmacology : peptide growth factors and their receptors I (ed. Sporn MB, Roberts AB), Springer-Verlag, Heidelberg, vol 95, 1990, p 633-665.
- Taga T, Kishimoto T : Gp 130 and the interleukin-6 family of cytokines. Annu. Rev. Immunol. 15 : 797-819, 1997.
- Matsushima K, Morishita K, Yoshimura T, Lavu S, Kobayashi Y, Lew W, Appella E, King HF, Leonard EJ, Oppenheim JJ : 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.
- Matsushima K, Larsen CG, DuBois GC, Oppenheim JJ : Purification and characterization of a novel monocyte chemotactic and activating factor produced by a human myelomonocytic cell line. J. Exp. Med. 169 : 1485-1490, 1989.
- 和田隆志, 横山 仁, 小林健一, 向田直史, 松島綱治 : 抗ケモカイン療法による炎症制御の可能性—腎炎を中心として—、炎症 17 : 335-343, 1997.
- Baggiolini M, Dewald B, Moser B : Human chemokines : an update. Annu. Rev. Immunol. 15 : 675-705, 1997.
- Rollins BJ : Chemokines. Blood 90 : 909-928, 1997.
- Watanabe K, Konishi K, Fujioka M, Kinoshita S, Nakagawa H : The neutrophil chemoattractant produced by the rat kidney epithelioid cell line NRK-52E is a protein related to the KC/gro protein. J. Biol. Chem. 264 : 19559-19563, 1989.
- Nakagawa H, Komorita N, Shibata F, Ikesue A, Konishi K, Fujioka M, Kato H : Identification of cytokine-induced neutrophil chemoattractants (CINC), rat GRO/CINC-2 α and CINC-2 β , produced by granulation tissue in culture : purification, complete amino acid sequences and characterization. Biochem. J. 301 : 545-550, 1994.
- Ivashkiv LB : Cytokine expression and cell activation in inflammatory arthritis. Adv. Immunol. 63 : 337-376, 1996.
- Goto K, Nakamura S, Goto F, Yoshinaga M : Generation of an interleukin-1-like lymphocyte-stimulating factor at inflammatory sites : correlation with the infiltration of polymorphonuclear leukocytes. Br. J. Exp. Pathol. 65 : 521-532, 1984.
- Cassatella MA : The production of cytokines by polymorphonuclear neutrophils. Immunol. Today 16 : 21-26, 1995.
- McIntosh JK, Jablons DM, Mulé JJ, Nordan RP, Rudikoff S, Lotze MT, Rosenberg SA : *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.
- Baumann H, Gaudie J : The acute phase protein. Immunol. Today 15 : 74-80, 1994.
- Utsunomiya I, Nagai S, Oh-ishi S : Sequential appearance of IL-1 and IL-6 activities in rat carrageenin-induced pleurisy. J. Immunol. 147 : 1803-1809, 1991.
- Okamoto H, Greenbaum, LM : Isolation and structure of T-kinin. Biochem. Biophys. Res. Commun. 112 : 701-708, 1983.
- Utsunomiya I, Ito M, Oh-ishi S : Generation of inflammatory cytokines in zymosan-induced pleurisy in rats : TNF induces IL-6 and cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC) *in vivo*. Cytokine (in press).
- Endo H, Akahoshi T, Takagishi K, Kashiwazaki S, Matsushima K : Elevation of interleukin-8 (IL-8) levels in joint fluids of patients with rheumatoid arthritis and the induction by IL-8 of leukocyte infiltration and synovitis in rabbit joints. Lymphokine Cytokine Res. 10 : 245-252, 1991.
- Watanabe K, Koizumi F, Kurashige Y, Tsurufuji S, Nakagawa H : Rat CINC, a member of the interleukin-8 family, is a neutrophil-specific chemoattractant *in vivo*. Exp. Mol. Pathol. 55 : 30-37, 1991.
- Furuta R, Yamagishi J, Kotani H, Sakamoto F, Fukui T, Matsui Y, Sohmura Y, Yamada M, Yoshimura T, Larsen CG, Oppenheim JJ, Matsushima K : Production and characterization of recombinant human neutrophil chemotactic factor. J. Biochem. 106 : 436-441, 1989.

- 29) Rampart M, DeSmet W, Fiers W, Herman AG : Inflammatory properties of recombinant tumor necrosis factor in rabbit skin *in vivo*. J. Exp. Med. 169 : 2227-2232, 1989.
- 30) Rampart M, Williams TJ : Evidence that neutrophil accumulation induced by interleukin-1 requires both local protein biosynthesis and neutrophil CD18 antigen expression *in vivo*. Br. J. Pharmacol. 94 : 1143-1148, 1988.
- 31) Okusawa S, Gelfand JA, Ikejima T, Connolly RJ, Dinarello CA : Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits : synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition. J. Clin. Invest. 81 : 1162-1172, 1988.
- 32) Carlos TM, Harlan JM : Leukocyte-endothelial adhesion molecules. Blood 84 : 2068-2101, 1994.
- 33) Cybulsky MI, McComb DJ, Movat HZ : Protein synthesis dependent and independent mechanisms of neutrophil emigration : different mechanisms of inflammation in rabbits induced by interleukin-1, tumor necrosis factor alpha or endotoxin versus leukocyte chemoattractants. Am. J. Pathol. 135 : 227-237, 1989.
- 34) 宇都宮郁, 伊藤美砂, 松島綱治, 渡辺一義, 鶴藤 丞, 大石幸子 : 炎症性サイトカインのラット胸腔内投与による白血球浸潤とデキサメタゾンの効果. 炎症 14 : 103-106, 1994.
- 35) Utsunomiya I, Nagai S, Oh-ishi S : Differential effects of indomethacin and dexamethasone on cytokine production in carrageenin-induced rat pleurisy. Eur. J. Pharmacol. 252 : 213-218, 1994.
- 36) Oh-ishi S, Utsunomiya I, Yamamoto T, Komuro Y, Hara Y : Effects of prostaglandins and cyclic AMP on cytokine production in rat leukocytes. Eur. J. Pharmacol. 300 : 255-259, 1996.
- 37) Katakami Y, Nakao Y, Koizumi T, Katakami N, Ogawa R, Fujita T : Regulation of tumor necrosis factor production by mouse peritoneal macrophages : the role of cellular cyclic AMP. Immunology 64 : 719-724, 1988.
- 38) Knudsen PJ, Dinarello CA, Strom TB : Prostaglandins posttranscriptionally inhibit monocyte expression of interleukin 1 activity by increasing intracellular cyclic adenosine monophosphate. J. Immunol. 137 : 3189-3194, 1986.
- 39) Zhang Y, Lin JX, Vilček J : Synthesis of interleukin 6(interferon- β_2 /B cell stimulatory factor 2) in human fibroblasts is triggered by an increase in intracellular cyclic AMP. J. Biol. Chem. 263 : 6177-6182, 1988.
- 40) Montminy M : Transcriptional regulation by cyclic AMP. Annu. Rev. Biochem. 66 : 807-822, 1997.
- 41) Strassmann G, Patil-Koota V, Finkelmann F, Fong M, Kambayashi T : Evidence for the involvement of interleukin 10 in the differential deactivation of murine peritoneal macrophages by prostaglandin E₂. J. Exp. Med. 180 : 2365-2370, 1994.
- 42) 原田明久, 松島綱治 : ケモカイン研究の新しい展開. 炎症と免疫 5 : 420-425, 1997.