軟骨細胞に対するサイトカインの作用

古賀敏生・池辺哲郎・入部英明*

Effects of cytokines on cultured chondrocytes Progressive degradation of articular cartilage is a major feature of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Attention has focussed in recent years on some cytokines including interleukin 1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF). These cytokines caused cartilage to degrade its proteoglycan and inhibited the synthesis of new proteoglycan in explants of cartilage.

We confirmed and extended these observations at the cellular level as follows. (1) Human recombinant IL-1 α , IL-1 β and TNF α strikingly inhibited the synthesis of glycosaminoglycan (GAG) and stimulated breakdown of proteoglycan in cultured chondrocytes. (2) These effects of IL-1 α and TNF α were specifically neutralized by anti-IL-1 α and anti-TNF α antisera, respectively. (3) Five different anti-IL-1 α monoclonal antibodies, capable of neutralizing LAF activity to a varying degree, also neutralized IL-1 α -induced inhibition of GAG synthesis and stimulation of proteoglycan breakdown. (4) The addition of TNF α , but not of IL-1 (α , β) to the cultures of chondrocytes stimulated DNA synthesis.

In this review we related these results to the previous observations by others. Together these results suggest that IL-1 and TNF α may play an important role in the mediation of cartilage damage in chronic arthritis.

Toshitaka Koga • Tetsuro Ikebe • Hideaki Iribe*

*Department of Biochemistry, Kyushu University School of Dentistry

key words: cytokines, interleukin 1, TNF, chondrocyte, glycosaminoglycan

慢性関節リウマチ (RA) や変形性関節症 (OA) をはじめとする関節疾患にみられる組織破壊, 特に骨軟骨破壊機序の解明は, 重要な医学的課題である。

1970年代の終りごろから, 軟骨の器官培養の系を用いて, 滑膜組織からの液性因子が軟骨基質の破壊を誘導することが報告され¹⁾, この液性因子の同定が進められてきた。Saklatvala らは, プタの滑膜および単球由来の軟骨破壊誘導因子を catabolin と名づけた²⁾。一方, Dayer らは, 単球由来の因子 (MCF) が滑膜細胞のコラゲナーゼやプロスタグランジン E₂ (PGE₂) の合成を刺激することを報告した³⁾。つづいて, ウサギやヒトの関節軟骨細胞も, MCF によりコラゲナーゼやプロテオグリカナーゼを分泌することが報告され⁴⁾, MCF により滑膜細胞や軟骨細胞の合成する蛋白分解酵素が, 軟骨基質のコラゲンやプロテオグリカンを分解する機序が考えられるようになった。この MCF は, リンパ球活性化因子 (LAF) と同じ分子と考えられ, インターロイキン 1 (IL-1) の名称に統一された⁵⁾。また, catabolin の精製が進むにつれ, catabolin も, IL-1 と同一分子とみなされるに至った。

近年, ヒトの IL-1 のアミノ酸配列が明らかになり, IL-1 α と IL-1 β の 2 種類が分離同定されている⁷⁾。IL-1 α と IL-1 β とは, アミノ酸配列の相同性が 26% と低い

にもかかわらず, 同一のレセプターに結合し, 同じ生物活性を有することも知られている⁷⁾。IL-1 には, 多様な生物活性が知られ, 骨軟骨破壊をはじめ, 軟骨細胞や滑膜細胞によるコラゲナーゼ, プロテオグリカナーゼ, PGE₂ の分泌, 滑膜細胞や血管内皮細胞の増殖, 骨吸収など, 関節炎にみられる病態を都合よく説明できる活性を有している^{8,9)}。また, IL-1 産生細胞として, 単球/マクロファージのほか, 好中球や滑膜細胞などが報告されている^{8,9)}。

最近, IL-1 とともに炎症のメディエーターとして腫瘍壊死因子 (TNF α) が注目されている。TNF α は, 元来, 腫瘍細胞に対する細胞障害作用を持つモノカインとして見いだされたものであるが, そのほかに多彩な生物活性が報告され, その多くは IL-1 と類似している⁷⁾ (表 1)。

Saklatvala は, 軟骨器官培養系を用いて, TNF α が軟骨破壊を誘導することを報告し, TNF α もまた, RA などの軟骨破壊に関わっている可能性を示唆している¹⁰⁾。

以上の事実から, IL-1 をはじめとするサイトカインが, RA など慢性炎症時の組織破壊に中心的な役割を果たしていると考えられる。さらに近年の遺伝子工学の進歩により, 遺伝子組み換え型 (リコンビナント) の純度の高いサイトカインが大量に入手できるようになり, この分野の研究の進歩に拍車をかけている。

筆者らは, ヒトリコンビナント IL-1 α が培養軟骨細胞のグリコサミノグリカン (GAG) 合成を著明に抑制す

* 九州大学歯学部生化学教室

図2 effect of IL-1 α and indomethacin on GAG synthesis of rat chondrocytes⁽¹¹⁾

図3 effect of IL-1 α , IL-1 β and TNF α on GAG synthesis of rat chondrocytes⁽¹²⁾

ドメサシンの GAG 合成への影響は、IL-1 α の存在下、非存在下いずれの場合も認められなかった。したがって、IL-1 α の効果は、PGE₂ 産生上昇によるものではないと考えられる。

IL-1 α , IL-1 β , TNF の作用の比較⁽¹²⁾

IL-1 α が GAG の著明な抑制活性を有することが明らかになったので、IL-1 β と TNF α についても、同様の活性が認められるかどうかを調べた。

図3に示すように、これら3種類のサイトカインのいずれの存在下においても、濃度上昇につれ、対照の10%程度までいじめるしい GAG 合成の抑制が認められた。50%抑制が認められる濃度を比較すると、TNF α で活性はもっとも強く、IL-1 β , IL-1 α の順で活性は低いことがわかる。軟骨器官培養における軟骨破壊の系⁽¹⁰⁾や骨吸収の系^(17,18)においては、一般に IL-1 よりも TNF α のほうが活性が弱いとされ、筆者らと逆の結果が報告されている。また、このラット軟骨細胞の GAG 合成抑制に要する IL-1 の濃度は、胸腺細胞の増殖に必要な濃度よ

図4 neutralization of GAG synthesis-inhibitory activity of the cytokines by anti-IL-1 α antiserum (a) and anti-TNF α antiserum (b)⁽¹²⁾

りも10~100倍程高い。しかし、ウサギの肋軟骨細胞を用いて同様の実験を行うと、IL-1 よりも TNF α の活性はいちじるしく低くなり、また、IL-1 の濃度も、0.1 ng/ml で最大活性を示した(池辺ら、未発表データ)。これら実験系や細胞の種による違いが、なにによるのかいまのところ不明であるが、おそらくサイトカインと細胞膜上のレセプターとの親和性の問題であろう。

IL-1 α , IL-1 β と TNF α による、GAG 合成抑制に及ぼす抗 IL-1 α 抗血清と抗 TNF α 抗血清の影響を調べると、図4に示すように、抗 IL-1 α 抗血清(1000×希釈)は、IL-1 α の作用のみを、また、抗 TNF α 抗血清(1000×希釈)は、TNF α の作用のみを特異的に中和する効果が認められた。

つぎに、IL-1 α , β , TNF α を、それぞれ suboptimal dose で組み合わせて作用させ、GAG 合成に及ぼす効果を調べた。IL-1 α と IL-1 β , IL-1 α と TNF α , IL-1 β と TNF α とを、それぞれ組み合わせた場合、単独の場合とくらべて additive な効果が認められた(池辺ら、未発表データ)。また、抗 IL-1 α 抗血清を同時に用いると、IL-1 α の活性が中和されるぶんだけ抑制は解除される傾向を示した。

IL-1 と TNF α の細胞膜上のレセプターは異なることが知られており⁽⁷⁾、その作用機序が異なると推定されている。さらに、骨吸収の系で IL-1 と TNF α とが相乗的に働くことが報告されているため⁽¹⁹⁾、筆者らは、軟骨細胞にも相乗的に作用することを期待したが、結果は前述のように、IL-1 と TNF とは additive な作用を示した。しかしながら、IL-1 と TNF との共存によって、軟骨細胞に対して低い濃度でも強い効果を認めた。この知見は、RA などの組織破壊において数種類のサイトカインの相加的ないしは相乗的な効果がみられる可能性を示唆しているように思われる。

線維芽細胞由来 IL-1 様因子(FTAF)の作用

筆者らは、細菌細胞壁ペプチドグリカンの最小有効単位であるムラミジペプチド (MDP) で刺激したモルモット線維芽細胞の培養上清中に、IL-1 様の活性を認め報告した^{20,21)}。

すなわち、0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度の MDP で刺激した培養上清中には、モルモット胸腺細胞のレクチン(PHA)に対する増殖反応を高める因子の存在が認められた。この因子(FTAF)の精製を現在進めており、分子量2万と3万5,000の二つの画分に活性を認めている(樺島ら、第17回日本免疫学会発表)。部分精製の FTAF (10 $\times$ 希釈)を用いて、培養軟骨細胞に対する作用を調べたところ、対照の42%まで GAG 合成の抑制が認められた。なお、同じく MDP 刺激モルモットマクロファージ由来のT細胞活性化モノカインは、10 $\times$ 希釈のもので36%の GAG 合成抑制が認められた。使用したモルモット FTAF は、ヒトやマウスの IL-1 とは異なるが、モルモットのモノカインと同じく、培養軟骨細胞に対しても、明瞭な作用が認められた点で興味ぶかい。

これまで述べてきたサイトカインによる GAG 合成抑制の機序は、いまだ不明である。³⁵S 硫酸の GAG への取り込み減少の原因としては、GAG 鎖の長さの短縮、GAG 鎖の数の減少、GAG の硫酸化の低下、コア蛋白合成量の低下などが考えられる。

Tyler らは、ブタの関節軟骨のスライスを培養して、IL-1 がプロテオグリカン合成を抑制することを報告しているが²²⁾、その報告のなかで、IL-1 によるコア蛋白合成の修飾が原因ではないかと推測している。しかし、この点に関しては、今後さらに検討が必要と思われる。

軟骨基質プロテオグリカン分解に及ぼす IL-1 と TNF α の効果

軟骨破壊の実験として、これまで軟骨片の培養系で、培養上清中に遊離してきたプロテオグリカンをメタクロマジー染色によって検出する方法が用いられた⁶⁾。

筆者らは、培養細胞の系を用いて、軟骨破壊を検出する方法を考案し、培養軟骨細胞の合成する GAG を³⁵S 硫酸であらかじめ標識することによって良好な結果を得た(池辺ら、未発表データ)。

すなわち、³⁵S 硫酸添加による前処置によって、培養軟骨細胞に³⁵S で標識されたプロテオグリカンを合成させておき、細胞層をよく洗浄した後、アイソトープ不含の新鮮な培地とサイトカインを加え、一定時間インキュベートし、細胞層から培養上清中に遊離してきた³⁵S 標識 GAG をカウントし、これをプロテオグリカンの分解と評価した。図5aのように、IL-1 α 、TNF α ともに作用時間に依存して、GAG の遊離を顕著に促進させた。また、IL-1 α による GAG 遊離は、抗IL-1 α 抗血清に

図5 time course (a) and dose-dependency (b) of cytokine-induced GAG breakdown of rat chondrocytes

より完全に中和された。さらに、この GAG 遊離促進効果は、IL-1 α の濃度に依存し、前に示した GAG 合成抑制効果と同じく、100 ng/ml の濃度で最大効果が認められた(図5b)。

IL-1 によるプロテオグリカン分解のメカニズムとしては、IL-1 刺激により軟骨細胞の合成するメタロプロテアーゼが、コア蛋白のヒアルロン酸結合部位と、リンク蛋白を分解するためだと考えられている^{23,24)}。多数のプロテオグリカンモノマーが、そのヒアルロン酸結合部位によりヒアルロン酸に結合し、その結合をリンク蛋白が補強するようにして凝集したものが、軟骨プロテオグリカンである¹⁴⁾。したがって、メタロプロテアーゼによってヒアルロン酸結合部位が切断されると、プロテオグリカンモノマーは、もはやヒアルロン酸と結合できなくなり、基質から培養上清へと遊離することにより、基質の破壊が進むと解釈されている²³⁾。

軟骨細胞の DNA 合成に及ぼす IL-1 と TNF α の作用

IL-1 と TNF α には、線維芽細胞の増殖を促進する活性が知られているので⁷⁾、これらサイトカインが軟骨細胞の DNA 合成にどのような効果をもつかを調べてみた。すなわち、³H-チミジンの取り込みにより軟骨細胞の DNA 合成に及ぼす3種のサイトカインの効果を比較

表 2 effects of three cytokines on [^3H] TdR uptake of rat chondrocytes^{12)*}

	[^3H]TdR uptake cpm $\pm$ SE(% of control)
a. subconfluent culture (6 days)	
control	5949 $\pm$ 1126(100)
IL-1 α	9633 $\pm$ 739(162)
IL-1 β	9535 $\pm$ 761(160)
TNF α	16689 $\pm$ 929(281)
b. confluent culture (15 days)	
control	4838 $\pm$ 806(100)
IL-1 α	2974 $\pm$ 288(61.5)
IL-1 β	2353 $\pm$ 327(48.6)
TNF α	15946 $\pm$ 3765(329)

* The cytokines (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) were added to the medium containing 3% FCS on day 3 (a: subconfluent culture) and day 12 (b: confluent culture).

図 6 effect of FCS concentration on the stimulation of [^3H] TdR uptake by TNF α ¹²⁾

した。表 2a には、培養 6 日目、confluent に達する前、活発に増殖している時期の細胞を用いて得られた結果を、また、表 2b には、培養 15 日目 confluent に達した後の細胞についての結果を示している。

TNF α の効果は、6 日目と 15 日目とのいずれの細胞を用いた場合も DNA 合成促進効果が著明で、TNF α による 72 時間刺激で対照のほぼ 3 倍まで DNA 合成の上昇

が認められた。IL-1 α , β では、6 日目の細胞を用いた場合に弱い刺激効果がみられたが、15 日目の細胞では対照にくらべ、むしろやや抑制的であった。

図 6 は、ウシ胎仔血清 (FCS) 濃度が TNF α による DNA 合成促進にどのような影響を及ぼすかを調べたものである。FCS を添加しない条件下でも、TNF α (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の存在下、DNA 合成の有意の上昇がみられた。また、FCS 濃度を 5% から 20% まで増すにつれて、DNA 合成は、著明に増強する傾向が認められた。FCS 中には、上皮成長因子 (EGF)、インスリン、ソマトメジン、血小板由来成長因子 (PDGF) など種々の成長因子が含まれることが知られており²³⁾、このような成長因子と TNF α との相乗効果の結果と考えられる。この DNA 合成刺激に要する TNF α の濃度は、1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とかなり高濃度であるが、より低い濃度でも成長因子との相乗効果によって、*in vivo* においても軟骨細胞の増殖に関与しているのではないかと考えられる。また、IL-1 と TNF α とは多くの活性が類似している⁷⁾ が、軟骨細胞の DNA 合成に対しては、上記のように異なる作用を示し、興味ある点である。

以上、培養軟骨細胞の GAG 合成、プロテオグリカン分解、DNA 合成に及ぼす 3 種類のサイトカインの影響について述べた。このことから、IL-1 および TNF α は、軟骨細胞に作用し、おそらくマトロプロテアーゼを分泌させ、プロテオグリカンを分解する一方、細胞自体のプロテオグリカン合成を抑制することによって、基質の破壊を促進しているものと考えられる。

抗 IL-1 α モノクローナル抗体による GAG 合成抑制の中和作用

IL-1 α による GAG 合成抑制が、抗 IL-1 α 抗血清処理によって特異的に中和される所見に関連して、抗 IL-1 α モノクローナル抗体 5 種類を用いて、GAG 合成抑制機能の中和効果を調べた。このような試みは、IL-1 の LAF 活性に関与するエピトープが、軟骨基質の合成抑制や、分解促進活性に関係したエピトープと、同一かどうかを明らかにするうえで有用と考えられる。すなわち、両者のエピトープが異なれば、どちらか一方の生物活性を抑制するモノクローナル抗体ができる可能性がある。

筆者らの作製した異なるエピトープを認識する 5 種類のモノクローナル抗体の中和効果は、GAG 合成抑制 (図 7a)、プロテオグリカン分解 (図 7b) の、いずれの系でも類似していた。すなわち、LAF 活性に対する中和効果のもっとも強い 38-1-1 は、軟骨細胞の GAG 合成抑制活性およびプロテオグリカン分解活性に対しても、もっとも強い中和効果を有しており、LAF 活性に対する中和力をもっとも弱い 9-7-1 は、軟骨細胞の系においても

図7 neutralization of GAG synthesis-inhibitory activity (a) and GAG-breakdown activity (b) of IL-1α by anti-IL-1α monoclonal antibodies

もっとも弱いという結果であった。

このことから、IL-1α 分子上の LAF 活性に関するエピトープと軟骨細胞に作用を示すエピトープとが、かなり近傍もしくは同一であることが示唆されるが、この点については、さらに詳しく検討を要する。

IL-1 分子上のエピトープ、あるいは最小有効単位に関する研究は、IL-1 の合成ペプチド²⁶⁾ やリコンビナントの IL-1 ペプチド断片²⁷⁾ を用いて行われており、炎症誘起作用がなく、免疫増強作用のみを有する IL-1 アナログの開発が期待される。

おわりに

近年の遺伝子工学的手技の導入によるサイトカインの研究の進歩には、めざましいものがある。これらサイトカインの生物活性の解析が進むにつれ、サイトカイン間の相互作用も明らかにされた。

たとえば、単球では、IL-1 作用により TNF 合成が上昇し、逆に TNF の刺激で IL-1 の合成が高められることがわかっている⁷⁾。内皮細胞や線維芽細胞においても、TNF による IL-1 合成促進効果が報告されている⁷⁾。また、インターフェロン (IFN) γ は、種々の細胞で TNF のレセプター数を増加させ、TNF α の感受性を高めることが知られている⁷⁾。さらに、IL-1 も TNF α も、ともに線維芽細胞の IFN β_2 の産生を上昇させるといわれている⁷⁾。

最近、IFN β_2 が、B 細胞刺激因子-2 (BSF-2/IL-6) と同一の蛋白であることがわかった²⁸⁾ が、志水ら²⁹⁾ は、心房粘液腫では BSF-2/IL-6 の産生が上昇しており、心房粘液腫の膠原病様症状が、BSF-2 の生物活性によって説明できるとしており、興味ある所見である。

このように、サイトカイン同士の相互作用により、生体防御のネットワークが形成されているというのが最近の考えかたであり³⁰⁾、このサイトカイン産生の量的な異常が疾病の発症に重要であると思われる。

RA 患者の滑液中に、IL-1 活性が見いだされ³¹⁾、また、ウサギ膝関節への IL-1 の注入により、関節炎の発症がみられたという最近の報告³²⁾ から、*in vivo* におけるサイトカインの異常産生が、組織破壊に関与していることが示唆される。このサイトカインの異常産生に係わる誘因の解析も、重要な課題であろう。この点については、プロテオグリカンやコラーゲンの分解産物が、単球や滑膜細胞のサイトカイン合成を促進すると報告されており⁹⁾ 注目される。また、これらサイトカインが細胞表面上のレセプターに結合したあとの細胞内刺激受容伝達機構の解明は、今後の重要課題と思われる。

RA などにみられる軟骨破壊には、パンス形成や活性酸素、好中球由来のライソゾーム酵素などの関与が考えられる³³⁾ が、今回は、筆者らの研究をもとに、サイトカインの作用を中心に考察を行った。

本総説で採りあげた筆者らの研究は、文部省科学研究費(課題番号62480387)および厚生省特定疾患・難病の疾患モデル調査研究班(班長吉田孝人教授)の援助により行われた。

本研究を推進するに当たり、たえず励しと御支援をいただいている岡 増一郎 教授(九州大学歯学部口腔外科第二講座)に感謝します。

文 献

- 1) Fell, H.B., Jubb, R.: The effect of synovial tissue on the breakdown of articular cartilage in organ culture. *Arthritis Rheum.* 20: 1359-1371, 1977.
- 2) Saklatvala, J., Dingle, J.T.: Identification of catabolin, a protein from synovium which induced degradation of cartilage in organ culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 96: 1225-1231, 1980.
- 3) Dayer, J.M., Goldring, S.R., Robinson, D.R., Krane, S.M.: Effects of human mononuclear cell factor on cultured rheumatoid synovial cells: interaction of prostaglandin E₂ and cyclic adenosine 3'/5'-monophosphate. *Biochim. Biophys. Acta* 586: 87-105, 1978.
- 4) Gowen, M., Wood, D.D., Ihrie, E.J., Meats, J.E., Russell, R.G.G.: Stimulation by human interleukin 1 of cartilage breakdown and production of collagenase and proteoglycanase by human chondrocytes but not by human osteoblasts *in vitro*. *Biochim. Biophys. Acta* 797: 186-193, 1984.
- 5) Dinarello, C.A.: Interleukin-1. *Rev. Infect. Dis.* 6: 51-95, 1984.
- 6) Saklatvala, J., Pilsworth, L.M.C., Sarsfield, S.J., Gavrilovic, J., Heath, J.K.: Pig catabolin is a form of interleukin 1. Cartilage and bone resorb, fibroblasts make prostaglandin and collagenase, and thymocyte proliferation is augmented in response to one protein. *Biochem. J.* 224: 461-466, 1984.
- 7) Le, J., Vilček, J.: Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Laboratory Invest.* 56: 234-248, 1987.
- 8) Oppenheim, J.J., Kovacs, E.J., Matsushima K., Durum, S.K.: There is more than one interleukin 1. *Immunol. Today* 7: 45-56, 1986.
- 9) Pujol, J.-P., Loyau, G.: Interleukin-1 and osteoarthritis. *Life Sci.* 41: 1187-1198, 1987.
- 10) Saklatvala, J.: Tumor necrosis factor α stimulates resorption and inhibits synthesis of proteoglycan in cartilage. *Nature* 322: 547-549, 1986.
- 11) Ikebe, T., Hirata, M., Koga, T.: Human recombinant interleukin 1-mediated suppression of glycosaminoglycan synthesis in cultured rat costal chondrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 140: 386-391, 1986.
- 12) Ikebe, T., Hirata, M., Koga, T.: Effects of human recombinant tumor necrosis factor α and interleukin 1 on the synthesis of glycosaminoglycan and DNA in cultured rat costal chondrocytes. *J. Immunol.* 1988 (in press)
- 13) 鈴木不二男: 続・生化学実験講座 7. 情報伝達と細胞応答(下). 東京化学同人, 1986, p 871-873.
- 14) Caplan, A.I.: Cartilage. *Scientific American.* 251: 82-90, 1984.
- 15) 加藤幸夫: 軟骨形成と微小環境. 軟骨由来のソマトメジン様成長因子と細胞外基質の役割. *生化学* 55: 1067-1091, 1983.
- 16) Bocquet, J., Diareaux, M., Langris, M., Jouis, V., Pujol J.-P., Beliard, R., Loyau, G.: Effect of a interleukin-1 like factor (mononuclear cell factor) on proteoglycan synthesis in cultured human articular chondrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 134: 539-549, 1986.
- 17) Gowen, M., Mundy, G.R.: Actions of recombinant interleukin 1, interleukin 2, and interferon- γ on bone resorption *in vitro*. *J. Immunol.* 136: 2478-2482, 1986.
- 18) 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 tumor necrosis factors. *Nature* 319: 516-518, 1986.
- 19) Stashenko, P., Dewhirst, F.F., Peros, W.J., Kent, R.L., Ago, J.M.: Synergistic interactions between interleukin 1, tumor necrosis factor, and lymphotoxin in bone resorption. *J. Immunol.* 138: 1464-1468, 1987.
- 20) Iribe, H., Koga, T., Kotani, S., Kusumoto, S., Shiba, T.: Stimulating effect of MDP and its adjuvant-active analogues on guinea pig fibroblasts for the production of thymocyte-activating factor. *J. Exp. Med.* 157: 2190-2195, 1983.
- 21) Iribe, H., Koga, T.: Partial characterization of thymocyte-activating factor derived from MDP-stimulated guinea pig fibroblasts. *Microbiol. Immunol.* 28: 1125-1136, 1984.
- 22) Tyler, J.A.: Articular cartilage cultured with catabolin (pig interleukin 1) synthesizes a decreased number of normal proteoglycan molecules. *Biochem. J.* 227: 869-878, 1985.
- 23) Tyler, J.A.: Chondrocyte-mediated depletion of articular cartilage proteoglycans *in vitro*. *Biochem. J.* 225: 493-507, 1985.
- 24) Ratcliffe, A., Tyler, J.A., Hardingham, T.E.: Articular cartilage cultured with interleukin 1. *Biochem. J.* 238: 571-580, 1986.
- 25) Prins, A.P.A., Lipman, J.M., Sokoloff, L.: Effect of purified growth factors on rabbit articular chondrocytes in monolayer culture. I. DNA synthesis. *Arthritis Rheum.* 25: 1217-1227, 1982.
- 26) Antoni, G., Presentini, R., Perin, F., Tagliabue, A., Ghiara, P., Censini, S., Volpini, G., Villa, L., Boraschi, D.: A short synthetic peptide fragment of human interleukin 1 with immunostimulatory but not inflammatory activity. *J. Immunol.* 137: 3201-3204, 1986.
- 27) DeChiara, T.M., Young, D., Semionow, R., Stern, A.S., Batula-Bernardo, C., Fiedler-Nagy, C., Kaffka, K.L., Kilian, P.L., Yamazaki, S., Mizel, S.B., Lomedico, P.: Structure-function analysis of murine interleukin 1: Biologically active polypeptides are at least 127 amino acids long and are derived from the carboxyl terminus of a 270-amino acid precursor. *Proc. Natl. Acad.*

- Sci. USA 83: 8303-8307, 1986.
- 28) 平野俊夫, 岸本忠三: B細胞分化因子(BSF-2)の分子免疫生物学. 細胞工学 6: 477-484, 1987.
- 29) 志水正敏: BSF と膠原病と心房内粘液腫. Medical Immunology 13: 537-544, 1987.
- 30) Old, L.J.: Polypeptide mediator network. Nature 326: 330-331, 1987.
- 31) Fontana, A., Hengartner, M., Weber, E., Fehr, K., Grob, P.J., Cohen, G.: Interleukin-1 activity in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol. Int. 2: 49-53, 1982.
- 32) Pettipher, E.R., Higgs, G.A., Henderson, B.: Interleukin 1 induces leukocyte infiltration and cartilage proteoglycan degradation in the synovial joint. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 8749-8753, 1986.
- 33) 京極方久: 慢性関節リウマチ関節炎の発生と関節破壊のメカニズム. 最新医学 41: 2004-2013, 1986.