

Associations Between Serum Levels of Cytokines ; TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 and Clinical Pathogenesis or Immunological Disorder in Patients with Systemic Sclerosis

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9300

全身性強皮症患者血中サイトカインレベル；TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13と臨床病態及び免疫学的異常との相関

金沢大学医学部医学科皮膚科学講座（主任：竹原和彦教授）

長谷川 稔

本研究では、全身性強皮症 (systemic sclerosis, SSc) 患者の血清中の腫瘍壊死因子アルファ (tumor necrosis factor- α , TNF- α), インターロイキン 2 (interleukin 2, IL-2), IL-4, IL-6, IL-10, IL-13の濃度を測定し、これらが上昇しているかどうか、臨床症状や検査所見との相関がみられるかどうかについて検討した。限局型全身性強皮症 (limited cutaneous SSc, lSSc) 51例、汎発型全身性強皮症 (diffuse cutaneous SSc, dSSc) 30例、健常人30例より血清を採取し、ELISAにより各サイトカインの濃度を測定した。血清中のTNF- α , IL-4, IL-13は、lSScとdSScの両群で健常人よりも有意に上昇していた。IL-10はdSScで健常人よりも有意に上昇しており、IL-6は発症早期のdSScで健常人よりも有意に上昇していた。IL-2はSScの少数例に検出されたが、健常人との間に有意差がみられなかった。臨床症状との関連については、TNF- α とIL-6は肺線維症を有するSSc患者で有意に高率に認められ、%肺活量と有意な負の相関が認められた。また、IL-6の血清中の濃度は赤沈、C-反応性蛋白 (C-reactive protein, CRP), IgG, IgAと有意に相関した。IL-13は赤沈やCRPとの間に有意な相関が認められた。IL-10の上昇は関節病変を有するSSc患者に高率に認められた。以上の結果より、TNF- α , IL-4, IL-6, IL-10, およびIL-13がSScの病態に何らかの役割を有していると考えられ、TNF- α とIL-6はSScにおける肺線維症の病態形成に関与している可能性が示唆された。また、SScの多様な病態は個々の患者における病態形成に関与しているサイトカインの組み合わせによって規定されていると考えられた。

Key words systemic sclerosis, ELISA, tumor necrosis factor- α , interleukin 6, pulmonary fibrosis

全身性強皮症 (systemic sclerosis, SSc) は炎症に引き続いて起こる皮膚および他臓器の線維化と血管障害により特徴づけられる自己免疫疾患であり、その病因はいまだ不明である。特に皮膚硬化が進行している時期の皮膚病変部ではリンパ球、マクロファージなどの細胞浸潤が認められる。これらの細胞は、種々のサイトカインを産生することにより同部の線維芽細胞や血管内皮細胞等に作用し、SScに特徴的な線維化や血管障害を引き起こすと考えられている。中でも、トランスフォーミング増殖因子ベータ (transforming growth factor- β), 血小板由来増殖因子 (platelet-derived growth factor) などの細胞増殖因子が、特に線維化の過程で中心的な役割を果たしていると考えられている¹⁾。しかし、他にもインターロイキン (interleukin, IL)-4, IL-6などの種々のサイトカインが病態に関与していると推定されている。これらのサイトカインは試験管内での実験結果などから線維芽細胞によるコラーゲン産生の亢進、血管内皮障害、炎症症状の誘発などに寄与しているものと考えられる。しかし、実際にはこれらのサイトカインは相互に干渉しあっているため、生体内でのこ

れらの役割はほとんどわかっていない。

サイトカインの異常な産生の増加はある種の疾患や病態と密接に関連している。このためSSc患者において血清中の主要なサイトカインの産生異常を明らかにすることは、SScにおけるサイトカインネットワークを解明するための糸口となりうる。更にSScの多様な病態は、個々の患者における病態形成に関与しているサイトカインの組み合わせによって規定されている可能性も考えられる。本研究では、主要なサイトカインのうち、これまで強皮症における血中濃度が測定されてない、あるいは報告者により結果が異なり一定の見解が得られていないサイトカインである腫瘍壊死因子アルファ (tumor necrosis factor- α , TNF- α), IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, およびIL-13の血清中の濃度を測定し、臨床症状や検査所見との関連についても詳細に検討した。

対象および方法

I. 血清

1988年から1997年までの10年間に金沢大学医学部附属病院

平成10年1月6日受付、平成10年2月27日受理

Abbreviations : CRP, C-reactive protein; DLco, diffusion capacity for carbon monoxide; dSSc, diffuse cutaneous systemic sclerosis; IFN- γ , interferon- γ ; IL, interleukin; IU, international unit; lSSc, limited cutaneous systemic sclerosis; RA, rheumatoid arthritis; RNP, ribonucleoprotein; SSc, systemic sclerosis; Th1, type 1 T helper cells; Th2, type 2 T helper cells; TNF- α , tumor necrosis factor- α ; VC, vital capacity

皮膚科, または東京大学医学部附属病院皮膚科を受診したSSc患者81例と, 正常対照群として健康人30例から血清を採取した。ただし, 検体や測定上の事情により各サイトカインをこれらの全例で測定することはできず, これらの母集団から無作為に選んだ患者群において各サイトカインの濃度を測定した。患者の年齢は12~71歳(平均43歳), 性別は男性8例, 女性73例であった。一方, 正常対照群の年齢は14~72歳(平均43歳), 性別は男性3例, 女性27例であった。患者の全例がアメリカリウマチ協会(American College of Rheumatology)の診断基準を満たしていた²⁾。SSc患者は, LeRoyら³⁾により提唱された分類基準に従うと限局型全身性強皮症(limited cutaneous SSc, lSSc)51例と汎発型全身性強皮症(diffuse cutaneous SSc, dSSc)30例に分類された。また, 測定結果によってはこれらの2群を発症から3年以内の早期例と3年以降の晩期例に更に分類した。SSc患者全体の33%にあたる27例ではプレドニゾン20mg/日までの内服治療を受けていた(表1)。

II. 臨床所見と検査所見

SSc患者から詳細な臨床所見, 検査所見を採取した。臓器病変の有無に関する基準については, Steenら⁴⁾により記載されたものを一部改変し, 以下の所見を認める場合に臓器病変ありとした。

1. 肺病変

胸部単純X線上で両側性の線維化所見あり。また, 肺活量(vital capacity, VC), 肺拡散量(diffusion capacity for carbon monoxide, DLco)を含めた肺機能の検索も施行し, VCが予測値の80%未満, DLcoが予測値の75%未満のときに異常値とみなした。

2. 食道病変

バリウムによる食道造影で蠕動低下を認める。

3. 関節病変

炎症性の多発性関節痛, または関節炎が存在する。

4. 筋肉病変

近位性筋力低下と血清クレアチンキナーゼ(creatine kinase)の上昇を認める。

臨床検査所見では, 蛍光抗体間接法で散在斑点型の染色パターンをとるものを抗セントロメア抗体陽性とした。また, 抗ト

ポインメラーゼI抗体, 抗U1-リボ核蛋白(ribonucleoprotein, RNP)抗体はELISA(医学生物学研究所, 名古屋)にてそれぞれ10.0国際単位(international unit, IU)/ml, 15.0 IU/mlを超える場合に陽性とした。赤沈, C反応性蛋白(C-reactive protein, CRP)はそれぞれ20 mm/時間, 0.5 mg/dlを超えるものを異常値とした。IgG, IgA, IgMはそれぞれ1774 mg/dl, 355 mg/dl, 235 mg/dlを超えるものを異常値とした。

III. ELISA

血清中のTNF- α , IL-2, IL-4の測定にはELISAキット(T cell Diagnostics, Cambridge, USA), IL-6の測定にはELISAキット(R&D systems, Minneapolis, USA)を使用した。また, IL-10の測定にはELISAキット(Immunotech, Munster, Germany), IL-13の測定にはELISAキット(Chemicon, Temecula, USA)を使用した。各血清はプロトコールに従って2回測定し, その平均値を使用した。各測定法の検出限界はTNF- α が1.5 pg/ml, IL-2が61 pg/ml, IL-4が1.8 pg/ml, IL-6が2.1 pg/ml, IL-10が3 pg/ml, IL-13が0.195 ng/mlであった。

IV. 統計処理法

2群間のサイトカインレベルの比較にはMann-WhitneyのU検定を使用した。2群間における頻度の比較にはFisherの直接確率計算法を, 年齢や罹病期間の比較にはt検定を使用した。各サイトカインの値と臨床検査値, または2種類のサイトカインの間での相関についてはSpearmanの順位相関係数を用いて検討した。いずれも, 危険率5%未満($p < 0.05$)を有意差ありとした。

成 績

I. 血清中の各サイトカインの濃度

1. TNF- α (図1A)

血清中のTNF- α はlSScの患者では51例中44例(86%)に, dSScの患者では30例中27例(90%)に検出された。これらは, 正常対照群で30例中15例(50%)に検出されたのと比較して有意に高率であった。更に, 血清中のTNF- α 値はlSSc(中央値7.0, 範囲<1.5-359 pg/ml)とdSSc(中央値7.5, 範囲<1.5-684 pg/ml)の両群で対照群(中央値<1.5, 範囲<1.5-60 pg/ml)に比べて有意に高値であった。

Table 1. Demographic features of patients with systemic sclerosis and normal controls examined in the study

Group	Number of subjects	Sex		Age ($\bar{x} \pm SD$, years)	Disease duration ($\bar{x} \pm SD$, months)	Number (%) of subjects with corticosteroid treatment
		Male	Female			
Normal control	30	3	27	43 $\pm$ 13		
All SSc	81	8	73	43 $\pm$ 15	89 $\pm$ 97	27 (33)
lSSc	51	2	49	41 $\pm$ 13	157 $\pm$ 113	7 (14)
Early lSSc	19	1	19	42 $\pm$ 15	12 $\pm$ 3	1 (5)
Late lSSc	32	1	31	41 $\pm$ 12	216 $\pm$ 104	6 (19)
dSSc	30	6	24	43 $\pm$ 18	121 $\pm$ 102	20 (37)
Early dSSc	13	3	10	45 $\pm$ 19	16 $\pm$ 6	10 (77)
Late dSSc	17	3	14	42 $\pm$ 18	168 $\pm$ 91	10 (59)

SSc, systemic sclerosis; lSSc, limited cutaneous SSc; dSSc, diffuse cutaneous SSc; Early, ≤ 3 years duration; Late, > 3 years duration.

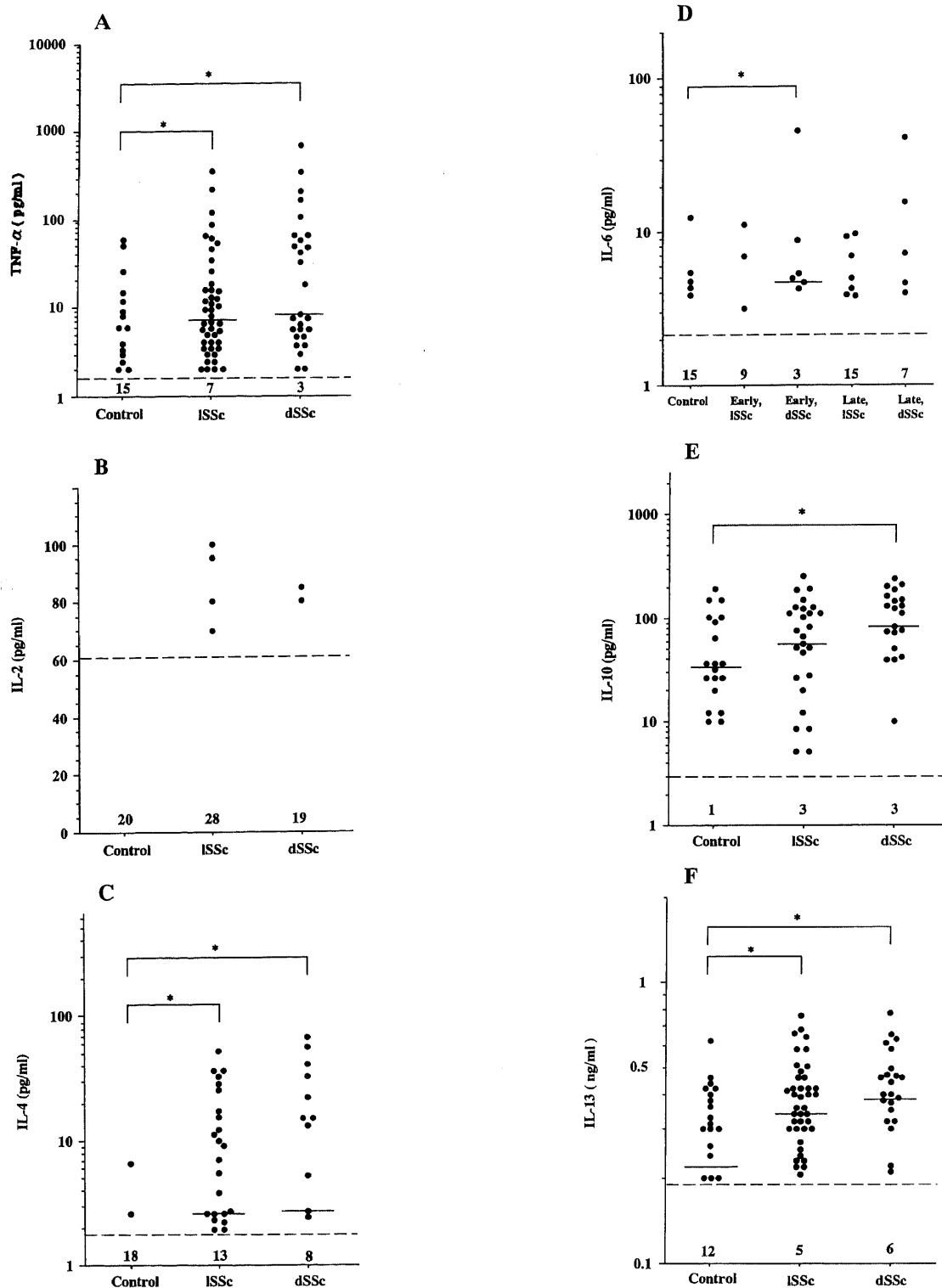


Fig. 1 Tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 levels in sera from normal controls and patients with systemic sclerosis (SSc). The broken line indicates the detection limit in each assay. The levels of detection for TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, and IL-13 were 1.5 pg/ml, 61 pg/ml, 1.8 pg/ml, 2.1 pg/ml, 3 pg/ml, and 0.195 ng/ml, respectively. The figure below the broken line indicates the number of patients with undetectable levels. Short bars indicate the median in each group. (A) Serum TNF- α levels in normal controls (n=30) and patients with limited cutaneous SSc (ISSc) (n=51) and diffuse cutaneous SSc (dSSc) (n=30). *p<0.001 versus normal controls. (B) Serum IL-2 levels in normal controls (n=20) and patients with ISSc (n=32) and dSSc (n=21). (C) Serum IL-4 levels in normal controls (n=20) and patients with ISSc (n=36) and dSSc (n=19). *p<0.005 versus normal controls. (D) Serum IL-6 levels in normal controls (n=20) and patients with SSc (n=55). The patients were divided into 4 groups; ISSc $\leq$ 3 years duration (early, ISSc) (n=12), dSSc $\leq$ 3 years duration (early, dSSc) (n=9), ISSc > 3 years duration (late, ISSc) (n=22), dSSc > 3 years duration (late, dSSc) (n=12). *p<0.05 versus normal controls. (E) Serum IL-10 levels in normal controls (n=20) and patients with ISSc (n=29) and dSSc (n=23). *p<0.05 versus normal controls. (F) Serum IL-13 levels in normal controls (n=30) and patients with ISSc (n=45) and dSSc (n=28). *p<0.05 versus normal controls.

2. IL-2 (図1B)

血清中のIL-2はISScの患者32例中4例(13%)に、dSScの患者21例中2例(10%)に検出されたが、対照群では20例全例が検出感度以下であった。しかしながら、各群の間で検出頻度に有意差はみられなかった。

3. IL-4 (図1C)

血清中のIL-4はISScの36例中23例(64%)、dSScの19例中11例(58%)に検出され、これらは対照群で20例中2例(10%)に検出されたのと比較して有意に高率であった。血清中のIL-4値はISSc(中央値2.6, 範囲<1.8-52.0 pg/ml)とdSSc(中央値2.7, 範囲<1.8-66.0 pg/ml)の両群で対照群(中央値<1.8, 範囲<1.8-6.6 pg/ml)よりも有意に高値を示した。

4. IL-6 (図1D)

血清中のIL-6は患者55例中21例(38%)に、対照群20例中5例(25%)に検出されたものの両群間の検出率に有意差は認められなかった。同様に血清中のIL-6値は強皮症患者(中央値<0.7, 範囲<0.7-45.5 pg/ml)と対照群(中央値<0.7, 範囲<0.7-12.5 pg/ml)との間に有意差は認められなかった。ISScとdSScに分けて検討しても対照群と有意差は認められなかったが、早期のdSSc(中央値4.6, 範囲<0.7-45.5 pg/ml)では対照群よりも有意

に高値であった。

5. IL-10 (図1E)

血清中のIL-10はSSc患者52例中46例(88%)に、対照群20例中19例(95%)に検出された。血清中のIL-10は強皮症患者(中央値76, 範囲<3-256 pg/ml)では対照群(中央値34, 範囲<3-196 pg/ml)よりも高値であったが、有意差は認められなかった。LSScとdSScの病型別に検討するとIL-10はISSc(中央値66, 範囲<3-256 pg/ml)では対照群と差が認められなかったものの、dSSc(中央値80, 範囲<3-244 pg/ml)では対照群よりも有意に高値であった。

6. IL-13 (図1F)

血清中のIL-13は患者73例中62例(85%)に、対照群30例中18例(60%)に検出されたが、両群の検出率に有意差は認められなかった。血清中のIL-13値はSSc患者(中央値0.37, 範囲<0.195-0.78 ng/ml)では対照群(中央値0.22, 範囲<0.195-0.62 ng/ml)よりも有意に高値であった。IL-13はdSSc(中央値0.385, 範囲<0.195-0.78 ng/ml)とISSc(中央値0.34, 範囲<0.195-0.76 ng/ml)の両群で対照群よりも有意に高値を示した。

II. 各サイトカインの濃度と臨床症状との相関

対照群の血清中における各サイトカインの濃度の平均値+2S

Table 2. Clinical and laboratory features of the 81 patients with SSc classified according to their serum TNF- α levels

Clinical and laboratory features	Number (%) of patients	
	Patients with elevated TNF- α level	Patients with normal TNF- α level
Total number of patients	16	65
Age at onset (years)	43 $\pm$ 13	41 $\pm$ 14
Sex		
Male	1	7
Female	15	58
Duration of SSc (years)	12 $\pm$ 8	12 $\pm$ 9
Corticosteroid treatment	6 (38)	20 (31)
Organ involvement		
Lung	9 (56)*	14 (22)
Decreased % DLco	12 (75)	40 (62)
Decreased % VC	9 (56)**	9 (14)
Esophagus	9 (56)	38 (58)
Joint	9 (56)	21 (32)
Muscle	1 (6)	7 (11)
Laboratory findings		
Anticentromere	3 (19)	24 (37)
Anti-topo I	6 (38)	24 (37)
Anti-U1 RNP	4 (25)	8 (12)
Elevated ESR	11 (69)	31 (48)
Elevated CRP	3 (19)	11 (17)
Elevated IgG	10 (63)	20 (31)
Elevated IgA	6 (38)	18 (28)
Elevated IgM	4 (25)	12 (18)

*p<0.05, **p<0.005, versus patients with normal TNF- α level. SSc, systemic sclerosis; TNF- α , tumor necrosis factor α ; VC, vital capacity; DLco, diffusion capacity for carbon monoxide; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein.

Dまでを正常範囲とみなし、これを超える値を高値とした。ただし、IL-2に関しては対照群の全例が検出感度以下であったため、IL-2が検出された場合に異常値とした。各サイトカインにおいて、高値を示した群と正常値を示した群との間で、各臨床症状や検査異常について比較検討した。

2. TNF- α (表2)

血清中のTNF- α が高値を示した群では肺病変が56%に検出され、正常値を示した群の22%よりも有意に高率であった。また、TNF- α が高値を示した群では%VCの減少が56%に検出され、正常値を示した群の14%よりも有意に高率であった。

2. IL-2

IL-2が検出された患者と検出されなかった患者との間に、臨床症状や検査所見の違いは認められなかった。

3. IL-4

IL-4が高値の患者群と正常値の患者群との間で、臨床症状や検査異常の有無に関して有意な差は認められなかった。

4. IL-6 (表3)

IL-6が高値を示した患者では、肺病変が71%に認められ、正常値の患者の19%よりも有意に高率であった。また、%VCの

減少はIL-6が高値の患者の71%に認められ、正常値の患者の25%よりも有意に高率であった。検査所見では、IL-6が高値の患者では抗セントロメア抗体が1例も認められず、正常値の患者の44%に比して有意に頻度が低かった。赤沈の亢進はIL-6高値群の全例に認められ、正常群の44%よりも有意に高率に認められた。血清中のIgGの上昇はIL-6高値群の全例に認められ、正常群の38%と比較して有意に高率であった。

5. IL-10

血清中のIL-10が高値を示した群では関節病変が88%に検出され、正常値を示した群の36%よりも有意に高率であった。

6. IL-13 (表4)

血清中のIL-13が高値を示した群では罹病期間が10 $\pm$ 7年と正常群の12 $\pm$ 9年よりも有意に短かった。また、血清中のCRPの上昇はIL-13高値群の35%に検出され、正常群の9%よりも有意に高率であった。

Ⅲ. 各サイトカインの濃度と臨床検査値との相関

SSc患者における各サイトカインの血中濃度と%VC、%DLco、赤沈、CRP、IgG、IgA、およびIgMの値との相関を検討した。このうち、有意な相関がみられたものを以下に示し

Table 3. Clinical and laboratory features of the 55 patients with SSc classified according to their serum IL-6 levels

Clinical and laboratory features	Number (%) of patients	
	Patients with elevated IL-6 level	Patients with normal IL-6 level
Total number of patients	7	48
Age at onset (years)	45 $\pm$ 13	43 $\pm$ 17
Sex		
Male	1	8
Female	6	40
Duration of SSc (years)	8 $\pm$ 7	7 $\pm$ 7
Corticosteroid treatment	5 (71)	14 (29)
Organ involvement		
Lung	5 (71)*	9 (19)
Decreased % DLco	4 (57)	23 (48)
Decreased % VC	5 (71)*	12 (25)
Esophagus	5 (71)	22 (46)
Joint	3 (43)	15 (31)
Muscle	3 (43)	6 (13)
Laboratory findings		
Anticentromere	0 (0)*	21 (44)
Anti-topo I	3 (43)	18 (38)
Anti-U1 RNP	0 (0)	5 (10)
Elevated ESR	7 (100)**	21 (44)
Elevated CRP	3 (34)	5 (10)
Elevated IgG	7 (100)**	18 (38)
Elevated IgA	5 (71)	17 (35)
Elevated IgM	2 (29)	14 (29)

*p<0.05, **p<0.005, versus patients with normal IL-6 level. SSc, systemic sclerosis; IL-6, interleukin-6; VC, vital capacity; DLco, diffusion capacity for carbon monoxide; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein.

Table 4. Clinical and laboratory features of the 73 patients with SSc classified according to their serum IL-13 levels

Clinical and laboratory features	Number (%) of patients	
	Patients with elevated IL-13 level	Patients with normal IL-13 level
Total number of patients	20	53
Age at onset (years)	44 ± 11	41 ± 15
Sex		
Male	2	5
Female	18	48
Duration of SSc (years)	10 ± 7*	12 ± 9
Corticosteroid treatment	7 (35)	17 (32)
Organ involvement		
Lung	9 (45)	12 (23)
Decreased % DLco	9 (45)	26 (49)
Decreased % VC	3 (15)	10 (19)
Esophagus	12 (60)	30 (57)
Joint	10 (50)	17 (32)
Muscle	2 (10)	6 (11)
Laboratory findings		
Anticentromere	5 (25)	19 (36)
Anti-topo I	8 (40)	22 (42)
Anti-U1 RNP	4 (20)	9 (17)
Elevated ESR	14 (70)	26 (49)
Elevated CRP	7 (35)*	5 (9)
Elevated IgG	8 (40)	20 (38)
Elevated IgA	7 (35)	14 (26)
Elevated IgM	5 (25)	10 (19)

*p<0.05, versus patients with normal IL-13 level. SSc, systemic sclerosis; IL-13, interleukin 13; VC, vital capacity; DLco, diffusion capacity for carbon monoxide; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein.

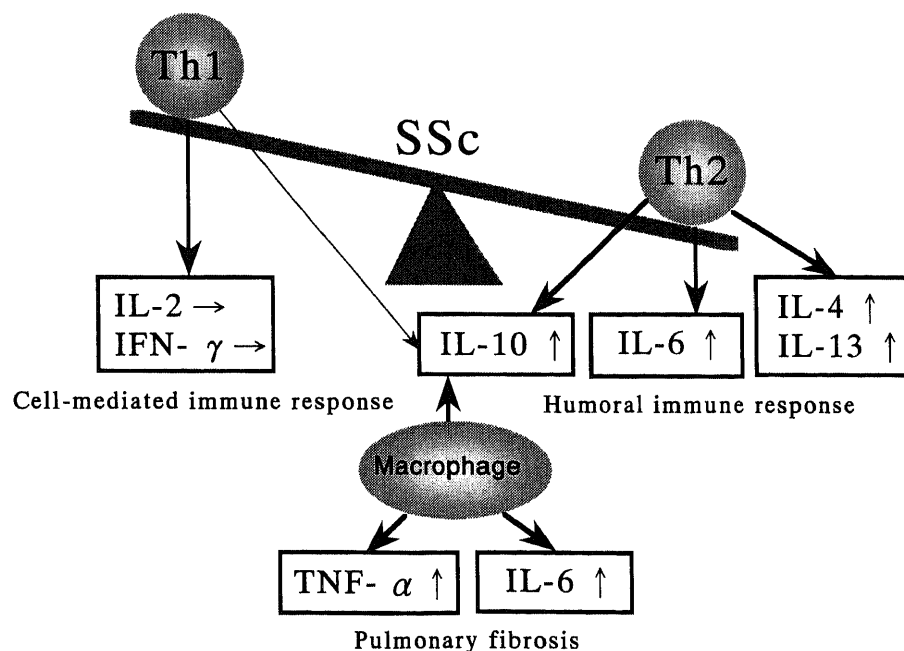


Fig. 2. Schematic representation of cytokines produced by type 1 T helper cells (Th1), type 2 T helper cells (Th2), and macrophages in systemic sclerosis (SSc). Cytokines derived from macrophage and Th2 seem to contribute to the pathogenesis of SSc. In addition, cytokines from macrophage may induce the development of pulmonary fibrosis in SSc. TNF- α , tumor necrosis factor- α ; IL, interleukin; IFN- γ , interferon- γ .

た。

1. TNF- α

SSc患者では血清中のTNF- α と% VCとの間に負の相関が認められた($r=-0.32$, $p<0.05$)。

2. IL-6

SSc患者では血清中のIL-6と% VCとの間に負の相関($r=-0.27$, $p<0.05$)、赤沈、CRPとの間にそれぞれ正の相関($r=0.48$, $p<0.005$; $r=0.47$, $p<0.05$)が認められた。また、IL-6は血清中のIgGやIgAとの間にもそれぞれ有意な正の相関が認められた($r=0.43$, $p<0.05$; $r=0.44$, $p<0.05$)。

3. IL-13

SSc患者では血清中のIL-13と赤沈との間に有意な正の相関が認められた($r=0.55$, $p<0.01$)。また、IL-13とCRPとの間にも有意な正の相関が認められた($r=0.49$, $p<0.05$)。

Ⅳ. 強皮症患者における各サイトカインの間での相関の検討

SSc患者における血清中のTNF- α はIL-4の濃度と有意に相関した($r=0.49$, $p=0.01$)。また、IL-6はIL-10と有意な相関を示した($r=0.43$, $p=0.03$)。しかし、他には各サイトカインの濃度間に有意な相関は認められなかった。

考 察

今回の検討では、SSc患者の血清中のTNF- α 、IL-4、IL-13がISScとdSScの両群で対象群よりも有意に高値を示した。また、IL-10はISScでは対象群と有意差がみられなかったが、dSScでは対象群よりも有意に高値を示した。IL-6は、発症早期のdSScで対照群よりも有意に高値を示した。臨床症状との関連についてはTNF- α 、IL-6は肺線維症を有する患者で高値を示す傾向が認められ、これらの値と肺線維症の重症度との間には正の相関が認められた。IL-6は、さらに抗セントロメア抗体陰性の症例、赤沈やIgGの高値の症例など疾患活動性の高い症例で高値を示した。IL-10は、関節病変を有する患者で高値を示す傾向が認められた。また、IL-13は、赤沈やCRPなどの炎症の指標との間に有意な正の相関が認められた。

TNF- α は活性化した単球/マクロファージから産生されるサイトカインのひとつで、線維芽細胞の増殖やコラーゲン産生の制御を含めた多彩な炎症および免疫制御作用を有している⁵⁾。これまでの検討ではSScにおける血清中のTNF- α に関しては、SSc患者で対照群よりも有意に高率に検出されたとする報告と健常人と差がみられなかったとする報告があり、一定の見解を得ていない^{6)~8)}。我々は、より感度の高いELISAを使用することによりSScでの血清中のTNF- α の上昇を確認した。TNF- α は線維芽細胞の増殖に対して低濃度では刺激し、高濃度では抑制することが報告されている⁹⁾。また、TNF- α のコラーゲン産生に対する作用については、生体内では持続的にTNF- α をマウスの皮下に注射することによりコラーゲン産生の増強することが示されている¹⁰⁾。一方で、試験管内ではTNF- α は線維芽細胞におけるプロコラーゲン $\alpha 1(I)$ mRNAの発現を抑制する¹¹⁾。コラーゲン産生に関する生体内と試験管内での実験結果の矛盾の理由として、TNF- α がコラーゲン産生に直接関与するのではなく、線維化に関与する他のサイトカインなどの作用を介して間接的に線維化を調節している可能性が考えられる。

血清中のTNF- α の濃度はISScとdSScとの間に有意差がみられなかったが、TNF- α と肺線維症の重症度との間には有意な正の相関がみられた。このことは、血清中に増加したTNF- α

の少なくとも一部は、皮膚ばかりではなく肺に由来している可能性を示唆していると思われる。TNF- α の肺線維症への関与を示唆する報告は少なくない。試験管内での検討では、原発性肺線維症患者由来のマクロファージからのTNF- α の産生およびmRNAの発現が上昇しており、更にTNF- α は培養肺線維芽細胞のI型およびIII型コラーゲン、ファイブロネクチンのmRNAの発現を上昇させることが報告されている¹²⁾。生体内での実験では、プレオマイシンを気管内に投与して肺線維症を起こさせたマウスにおいて、肺におけるTNF- α のmRNAが上昇しており、更に抗TNF- α 抗体の前投与により肺線維症の発症が抑制されている¹³⁾。これらの知見は、必ずしも肺線維症においてTNF- α が線維芽細胞の増加やコラーゲン合成を直接促進することを示してはいないが、TNF- α が少なくともある種の肺線維症で重要な役割を有している可能性を示している。これらの知見と我々の結果は、SScにみられる肺線維症でのTNF- α の関与を示唆するものと思われる。

IL-6はT細胞、B細胞、単球/マクロファージ、線維芽細胞、血管内皮細胞、表皮細胞などから産生され、免疫反応や炎症反応において多彩な生物学的効果を有するサイトカインである¹⁴⁾。このサイトカインは、肝細胞からの急性期反応蛋白の産生において主要な役割を果たす。また、B細胞に対して分化や免疫グロブリン産生を促進することが知られている。最近、IL-6がヒトの皮膚線維芽細胞からのコラーゲンやグリコサミノグリカンの産生を濃度依存性に増加させることが報告された¹⁵⁾。SSc患者の血清中では健常人に比べてIL-6が有意に高率に認められたとする報告があるが、その差は顕著なものではなかった($p=0.05$)⁸⁾。一方、少数例の検討で血清中のIL-6はSScと健常人の間で差がみられなかったという報告も認められる¹⁵⁾¹⁶⁾。我々の結果はIL-6が必ずしもSSc全体として上昇しているのではなく、発症早期のdSScで上昇していることを示すものである。即ち、IL-6はSScの病勢の強い時期の炎症や初期の線維化の病態に関与しているものと考えられる。

IL-6の上昇しているSSc患者では軽症型といわれる抗セントロメア抗体陽性例が認められず、肺線維症を有する重症例が高率に認められた。原発性肺線維症の患者では気管支肺胞洗浄液中にIL-6の増加していることが報告されており¹⁷⁾、一方ではSSc患者における気管支肺胞洗浄液中のIL-6の増加が報告されている¹⁸⁾。SSc患者血清中のIL-6の上昇はTNF- α と同様に肺線維症との関連を示すものと思われる。また、IL-6が肝細胞における急性期反応蛋白の合成に関与する主要なサイトカインであることから予測されるように、血清中のIL-6は赤沈やCRPといった炎症の指標との間に有意な相関が認められた。更に、SSc患者ではIL-6とIgG、IgAとの間に有意な相関が認められた。この結果は、SScにしばしばみられる免疫グロブリンの上昇にIL-6が関与していることを示唆するものである。

IL-13は主として活性化したT細胞から産生されるほか、肥満細胞からも産生される¹⁹⁾²⁰⁾。IL-13はIL-1、TNF- α の産生を抑制し、インターフェロンガンマ(interferon- γ , IFN- γ)の産生を促進する。また、B細胞に対して分化や免疫グロブリンの産生を促進させる。SScを含めた膠原病におけるIL-13の病態への関与はいまだ不明であるが、今回の検討ではSScにおいて血清中のIL-13の上昇を認め、特に罹病期間の短い症例で上昇していること、赤沈やCRPと相関することを認めた。IL-13は試験管内では単球からの炎症性サイトカインの産生を抑制すること

が知られているので、赤沈やCRPと相関するという結果は矛盾するように思われる。この理由として、炎症の結果として活性化されたT細胞からのIL-13の産生が亢進している可能性が考えられる。IL-13は主として活性化したT細胞から産生されるので、SScにおける炎症の程度をよく反映するのかもしれない。

IL-10は、T細胞、単球/マクロファージ、B細胞から産生され、IL-4と同様に単球やマクロファージからの炎症性サイトカインの産生の抑制、B細胞の分化促進や免疫グロブリンの産生促進に働く²¹⁾²²⁾。これまでにSSc患者における血清中のIL-10の濃度に関する検討は行われていないが、我々はdSScの患者血清中でIL-10が増加していることをみだした。SScにおけるIL-10の役割は不明であるが、慢性関節リウマチ(rheumatoid arthritis, RA)の患者では血清中のIL-10が上昇しており、リウマチ因子の抗体価とよく相関することが示されている²³⁾。また、RA患者では末梢血単核球からのIL-10の産生が増加していることが報告されており、これらの知見はIL-10が自己免疫疾患の関節病変に関与している可能性を示唆している²⁴⁾。今回の検討においても、血清中のIL-10が上昇しているSSc患者では高率に関節病変が認められた。

IL-4はT細胞と肥満細胞より産生される²⁵⁾²⁶⁾。IL-4はIL-13と構造的にも機能的にも類似しているが、IFN- γ の産生を抑制する点でIL-13と異なっている。少数例のSScにおける検討では、血清中のIL-4は全例で検出されなかったと報告されている²⁷⁾。一方、他の報告では血清中のIL-4が健常人よりも高率に検出されており⁸⁾、一定の見解が得られていない。これらの違いは対象患者の背景やELISAの感度によるものと思われるが、われわれの結果は後者の報告の結果を支持するものであった。IL-4は線維芽細胞と内皮細胞の両方の機能に変化を与える作用を有している。試験管内では、IL-4がヒトの線維芽細胞の増殖やコラーゲン産生を促進することが示されている²⁸⁾。リンパ球が血管内皮細胞に接着することは、炎症組織にリンパ球が浸潤するための最初の重要な過程であるが、IL-4はヒトの内皮細胞のT細胞への接着を誘導する作用を有している²⁹⁾。血中に増加したIL-4は線維芽細胞や内皮細胞に作用することにより、SScの病態に関与している可能性が考えられる。

IL-2はT細胞から産生され、T細胞、B細胞、単球、ナチュラルキラー細胞などの増殖作用を有している³⁰⁾。これらの細胞は細胞表面にIL-2受容体を有しており、これを介してIL-2のシグナル伝達が行われる。SSc患者の血清中のIL-2の濃度に関しては、健常人と差がないとする報告³¹⁾、少数例で上昇しているが臨床症状と相関しないとする報告⁸⁾²⁷⁾、ほとんどの患者で上昇しており疾患活動性と相関するという報告³²⁾がある。我々の検討では、SSc患者の少数例でのみ検出され、健常人との間に有意差は認められなかった。

SScの皮膚病変部の浸潤細胞の主体は活性化T細胞であり³³⁾、これらの産生するサイトカインはその病態に重要な役割を有していると考えられる。1986年にMosmannら³⁴⁾は、マウスのCD4陽性T細胞には、サイトカインの産生パターンが異なる2種類の細胞があることを報告した。そのひとつは、IL-2やIFN- γ を産生する1型ヘルパーT細胞(type 1 T helper cells, Th1)と呼ばれる細胞群であり、もうひとつはIL-4、IL-5、IL-6、IL-10などを産生する2型ヘルパーT細胞(type 2 T helper cells, Th2)と呼ばれる細胞群である。この理論は当初、マウスに限定した

ものと考えられてきたが、現在ではヒトにおいてもサイトカインによる病態モデルを考えるうえで有用と考えられている。ただし、ヒトではIL-10がTh2だけではなくTh1からも産生されることが最近明らかとなった³⁵⁾。Th1は主に細胞性免疫の調節に、Th2は主に液性免疫の調節にそれぞれ関与していると考えられている。Th1細胞が優位となれば、IFN- γ とIL-2の作用によりマクロファージの活性化やキラーT細胞の誘導などによる細胞性免疫が高まる。細胞内感染や腫瘍などに対する防御反応はこうした例であるが、Th1による作用が過度に起これば組織障害を引き起こす。一方、Th2の産生するIL-4やIL-6などのサイトカインはB細胞に対して抗体産生のクラススイッチを誘導し、免疫グロブリンの産生に促進的に働く。これまでにモデルマウスを使用した検討や血中や末梢血単核球培養上清中のサイトカインレベルの検討により、自己免疫疾患の中でもRA、糖尿病、多発性硬化症などではTh1細胞が優位のサイトカイン異常、全身性エリテマトーデスやシェーグレン症候群などではTh2細胞が優位のサイトカイン異常が推定されている^{36)~38)}。しかし、SScについては、適当なモデルマウスが存在しないこともあり、この点に関して一定の見解が得られていない。我々はSSc患者の血清中のサイトカインを測定することによりSScにおけるサイトカイン異常の検討を行った。その結果、SScではマクロファージから産生されるTNF- α の増加とIL-4、IL-13などのTh2型のサイトカインの増加が認められた。また、病勢の強いSScでは、やはりTh2型のサイトカインであるIL-6が増加していた。一方、Th1型のサイトカインであるIL-2では明らかな増加を認めなかった。IL-2とともにTh1型の代表的なサイトカインであるIFN- γ はこれまでの報告ではSSc患者に検出されていない⁸⁾³⁹⁾。以上の点から、SScではTh1よりもTh2から産生されるサイトカインが病態に関与している可能性が考えられる。しかし、血清中のサイトカインの測定で問題となるのは、定量感度とその意義である。これらはヘルパーT細胞以外の細胞から産生されたサイトカインも含めて測定しているからである。今後は、SScにおけるヘルパーT細胞のサイトカインの産生異常に関して、ヘルパーT細胞を分離して細胞内のサイトカインを2重染色し、フローサイトメーターで解析を行う必要があると考えている。

ところで我々の検討では、TNF- α とIL-6の血中濃度と肺病変の重症度との間に有意な相関が認められた。抗トポイソメラーゼI抗体陽性の患者では肺線維症が有意に高率に認められることが知られている⁴⁾が、TNF- α とIL-6はいずれも抗トポイソメラーゼI抗体との間に関連を認めなかったことから、相関は抗トポイソメラーゼI抗体を介するものではないと考えられた。IL-6の一部とTNF- α はマクロファージから産生されることが知られている。肺間質病変を有する患者の肺生検では、間質と肺胞上皮にマクロファージの浸潤が認められる⁴⁰⁾。また、肺間質病変を有するSSc患者の気管支肺胞洗浄液より採取したマクロファージの培養上清中には、ファibroネクチンや成長因子が多量に含まれていると報告されている⁴⁰⁾⁴¹⁾。一方で、IL-6は赤沈やCRPなどの炎症検査所見ともよく相関した。T細胞以外にマクロファージからも産生されるIL-10は関節病変のみられる患者で高率に検出された。これらの知見とわれわれの結果は、特にマクロファージ由来のサイトカインがSScの炎症病変、特に肺病変や関節病変の形成に関与している可能性を示唆するものと思われる。

SScではマクロファージ由来のTNF- α , IL-6, IL-10の産生増加が肺病変や関節病変などの炎症病変に関与し, Th2由来のIL-4, IL-6, IL-13がB細胞からの自己抗体や免疫グロブリンの産生増強, コラーゲン産生の亢進, 血管内皮障害などに働いてSScの病態形成に関与していることが推定される(図2).

結 論

SSc患者を対象に, 血清中のTNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13を測定し, 以下の結論を得た.

1. 血清中のTNF- α , IL-4, IL-13は, ISScとdSScの両群で健常人よりも有意に上昇していた.
2. 血清中のIL-10は, dSScで健常人よりも有意に上昇していた.
3. 血清中のIL-6は, 発症早期のdSScで健常人よりも有意に上昇していた.
4. TNF- α とIL-6は肺線維症の重症度との間に有意な正の相関が認められた.
5. IL-6は赤沈, CRP, IgG, IgAとの間に, IL-13は赤沈, CRPとの間に有意な正の相関が認められた.
6. IL-10の上昇は関節病変を有する患者に高率に認められた.

以上の結果から, 血中に増加したTNF- α , IL-4, IL-6, IL-10, IL-13がSScの病態において何らかの役割を有していると考えられ, 特にTNF- α とIL-6はSSc患者における肺線維症の病態形成に関与している可能性が示唆された.

謝 辞

稿を終るにあたり, 御指導と御校閲を賜りました竹原和彦教授に深甚なる謝意を表します. また, 御助言と御校閲をいただきました佐藤伸一講師に深く感謝の意を表します. さらに, 検体を提供していただきました東京大学医学部皮膚科学講座の諸先生方, 御協力と御支援をいただきました当教室の諸先生方に厚く御礼を申し上げます.

なお, 本論文の要旨の一部は, 第95回日本皮膚科学会総会(1996年6月, 札幌), 第21回日本研究皮膚科学会(1996年7月, 東京), The 60th National Scientific Meeting of American College of Rheumatology (October, 1996, Orlando, USA), 第25回日本臨床免疫学会(1997年9月, 東京)において発表した.

文 献

- 1) LeRoy EC, Smith EA, Kahaleh MB, Trojanowska M, Silver RM. A strategy for determining the pathogenesis of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 32: 817-825, 1989
- 2) Subcommittee for Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 23: 581-590, 1980
- 3) LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA Jr, Rowell N, Wollheim F. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 15: 202-205, 1988
- 4) Steen VD, Powell DL, Medsger TA Jr. Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 31: 196-203, 1988
- 5) Kovacs EJ. Fibrogenic cytokines: the role of immune mediators in the development of scar tissue. *Immunol Today* 12: 17-23, 1991
- 6) Kahaleh MB. Soluble immunologic products in scleroderma sera. *Clin Immunol Immunopathol* 58: 139-144, 1991
- 7) Kantor TV, Friberg D, Medsger TA Jr, Buckingham RB, Whiteside TL. Cytokine production and serum levels in systemic sclerosis. *Clin Immunol Immunopathol* 65: 278-285, 1992
- 8) Needleman BW, Wigley FM, Stair RW. Interleukin-1, interleukin-2, interleukin-4, interleukin-6, tumor necrosis factor α , and interferon- γ levels in sera from patients with scleroderma. *Arthritis Rheum* 35: 67-72, 1992
- 9) Thornton SC, Por SB, Walsh BJ, Penny R, Breit SN. Interaction of immune and connective tissue cells: I. The effect of lymphokines and monokines on fibroblast growth. *J Leuk Biol* 47: 312-320, 1990
- 10) Piguet PF, Grau GE, Vassalli P. Subcutaneous perfusion of tumor necrosis factor induces local proliferation of fibroblasts, capillaries, and epidermal cells, or massive tissue necrosis. *Am J Pathol* 136: 103-110, 1990
- 11) Solis-Herruzo JA, Brenners DA, Chojkier M. Tumor necrosis factor α inhibits collagen gene transcription and collagen synthesis in cultured human fibroblasts. *J Biol Chem* 263: 5841-5845, 1988
- 12) Zhang Y, Lee TC, Guillemin B, Yu MC, Rom WN. Enhanced IL-1 β and tumor necrosis factor- α release and messenger RNA expression in macrophages from idiopathic pulmonary fibrosis or after asbestos exposure. *J Immunol* 150: 4188-4196, 1993
- 13) Piguet PF, Collart MA, Grau GE, Kapanci Y, Vassalli P. Tumor necrosis factor/cachectin plays a key role in bleomycin-induced pneumopathy and fibrosis. *J Exp Med* 170: 655-663, 1989
- 14) Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol Today* 11: 443-449, 1990
- 15) Duncan MR, Berman B. Stimulation of collagen and glycosaminoglycan production in cultured human adult dermal fibroblasts by recombinant human interleukin 6. *J Invest Dermatol* 97: 686-692, 1991
- 16) Feghali CA, Bost KL, Boulware DW, Levy LS. Mechanisms of pathogenesis in scleroderma. I. Overproduction of interleukin 6 by fibroblasts cultured from affected skin sites of patients with scleroderma. *J Rheumatol* 19: 1207-1211, 1992
- 17) Jones KP, Reynolds SP, Capper SJ, Kalinka S, Edwards JH, Davies BH. Measurement of Interleukin-6 in bronchoalveolar lavage fluid by radioimmunoassay: differences between patients with interstitial lung disease and control subjects. *Clin Exp Immunol* 83: 30-34, 1991
- 18) Emura M, Nagai S, Takeuchi M, Kitaichi M, Izumi T. In vitro production of B cell growth factor and B cell differentiation factor by peripheral blood mononuclear cells and bronchoalveolar lavage T lymphocytes from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin Exp Immunol* 82: 133-139, 1990
- 19) Zurawski G, de Vries JE. Interleukin 13, an interleukin 4

- like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. *Immunol Today* 15: 19-26, 1994
- 20) Minty A, Chalon P, Derocq JM, Dumont X, Guillemot JC, Kaghad M, Labit C, Leplat P, Liauzun P, Miloux B, Minty C, Casellas P, Loison G, Lupker J, Shir D, Ferrara P, Caput D. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature* 362: 248-250, 1993
 - 21) Howard M, O'Garra A, Ishida H, Malefyt RDW, de Vries J. Biological properties of interleukin 10. *J Clin Immunol* 12: 239-247, 1992
 - 22) Rousset F, Garcia E, Defrance T, Peronne C, Vezzio N, Hsu DH, Kastelein R, Moore KW, Banchereau J. Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 1890-1893, 1992
 - 23) Cush JJ, Splawski JB, Thomas R, McFarlin JE, Schulze-koops H, Davis LS, Fujita K, Lipsky PE. Elevated interleukin-10 levels in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1: 96-104, 1995
 - 24) Llorente L, Richaud-patin Y, Fior R, Alcocer VJ, Wijdenes J, Fourrier BM, Galanaud P, Emilie D. *In vivo* production of interleukin-10 by non-T cells in rheumatoid arthritis, Sjögren's syndrome, and systemic lupus erythematosus. A potential mechanism of B lymphocyte hyperactivity and autoimmunity. *Arthritis Rheum* 37: 1647-1655, 1994
 - 25) Paul WE. Interleukin-4: A prototypic immunoregulatory lymphokine. *Blood* 77: 1859-1870, 1991
 - 26) Howard M, Farrar J, Hilfiker M, Johnson B, Takatsu K, Hamaoka T, Paul WE. Identification of a T cell-derived B cell growth factor distinct from interleukin 2. *J Exp Med* 155: 914-923, 1982
 - 27) Famularo G, Procopio A, Giacomelli R, Danese C, Sacchetti S, Perego MA, Santoni A, Tonietti G. Soluble interleukin-2 receptor, interleukin-2 and interleukin-4 in sera and supernatants from patients with progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 81: 368-372, 1990
 - 28) Postlethwaite AE, Holness MA, Katai H, Raghoebar R. Human fibroblasts synthesize elevated levels of extracellular matrix proteins in response to interleukin 4. *J Clin Invest* 90: 1479-1485, 1992
 - 29) Thornhill MH, Kyan-Aung U, Haskard DO. IL-4 increases human endothelial cell adhesiveness for T cells but not for neutrophils. *J Immunol* 144: 3060-3065, 1990
 - 30) Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R. Selective *in vitro* growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* 193: 1007-1008, 1976
 - 31) Keystone EC, Lau C, Gladman D, Wilkinson S, Lee P, Shore A. Immunoregulatory T cell subpopulations in patients with scleroderma using monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol* 48: 443-488, 1982
 - 32) Kahaleh MB, LeRoy EC. Interleukin-2 in scleroderma: Correlation of serum levels with extent of skin involvement and disease duration. *Ann Intern Med* 110: 446-450, 1989
 - 33) Roumm AD, Whiteside TL, Medsger TA Jr, Rodnan GP. Lymphocytes in the skin of patients with progressive systemic sclerosis: Quantification, subtyping, and clinical correlations. *Arthritis Rheum* 27: 645-653, 1984
 - 34) Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cells clone. I. Definition of according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 136: 2348-2357, 1986
 - 35) Sornasse T, Larenas PV, Davis KA, de Vries JE, Yssel H. Differentiation and stability of T helper 1 and 2 cells derived from native human neonatal CD4+ T cells, analyzed at the single-cell level. *J Exp Med* 184: 473-483, 1996
 - 36) Paul WE, Seder RA. Lymphocyte responses and cytokines. *Cell* 76: 241-251, 1994
 - 37) Rapoport MJ, Jaramillo A, Zipris D, Lazarus AH, Serreze DV, Leiter EH, Cyopick P, Danska TS, Delovitch TL. Interleukin-4 reverses T cell proliferative unresponsiveness and prevents the onset of diabetes in nonobese diabetic mice. *J Exp Med* 178: 87-99, 1993
 - 38) Ishida H, Muchamuel T, Sakaguchi S, Andrade S, Menon S, Howard M. Continuous administration of anti-interleukin 10 antibodies delays onset of autoimmunity in NZB/WF₁ mice. *J Exp Med* 179: 305-310, 1994
 - 39) Prior C, Haslam PL. *In vivo* and *in vitro* production of interferon- γ in fibrosing interstitial lung diseases. *Clin Exp Immunol* 88: 280-287, 1992
 - 40) Rossi GA, Bitterman PB, Rennard SI, Ferrans VJ, Crystal RG. Evidence for chronic inflammation as a component of the interstitial lung disease associated with progressive systemic sclerosis. *Am Rev Respir Dis* 131: 612-617, 1985
 - 41) Silver RM, Miller KS, Kinsella MB, Smith EA, Schabel SI. Evaluation and management of scleroderma lung disease using bronchoalveolar lavage. *Am J Med* 88: 470-476, 1990

Associations Between Serum Levels of Cytokines; TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 and Clinical Pathogenesis or Immunological Disorder in Patients with Systemic Sclerosis Minoru Hasegawa, Department of Dermatology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — J. Jusen Med Soc., **107**, 118 — 128 (1998)

Key words systemic sclerosis, ELISA, tumor necrosis factor- α , interleukin-6, pulmonary fibrosis

Abstract

The present study was performed to determine whether serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin 2 (IL-2), IL-4, IL-6, IL-10, and IL-13 levels in patients with SSc are elevated and whether they are correlated with the clinical or laboratory features of this disease. Serum samples from patients with limited cutaneous SSc (lSSc) (n=51), diffuse cutaneous SSc (dSSc) (n=30), and healthy control subjects (n=30) were examined by ELISA. Serum TNF- α , IL-4, and IL-13 levels were significantly higher in patients with lSSc and dSSc when compared with normal controls. Serum IL-10 levels were significantly higher in patients with dSSc when compared with normal controls. IL-6 levels were significantly elevated in patients with early dSSc when compared with normal controls. Although IL-2 was detected in sera from SSc patients, the detection rate was not significantly higher than that of normal controls. Serum TNF- α and IL-6 levels were detected more frequently in SSc patients with pulmonary fibrosis and these were inversely correlated with the % vital capacity of the individual patients. Serum IL-6 levels were significantly correlated with erythrocyte sedimentation rates (ESR), C-reactive protein (CRP), IgG, and IgA levels in patients. In addition, serum IL-13 levels were significantly correlated with ESR and CRP in patients. Elevated IL-10 levels were detected frequently in patients with arthralgia. These findings suggest that TNF- α , IL-4, IL-6, IL-10, and IL-13 are some of the cytokines that contribute to the pathogenesis of SSc, and that TNF- α and IL-6 are related to the development of pulmonary fibrosis in SSc. Additionally, it is considered that the heterogeneous features of SSc are regulated by the combination of cytokines related to the pathogenesis in each patient.