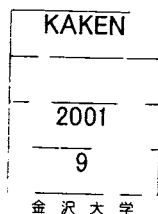


ケモカインならびにレセプターの分析法の開発とその病態検査学的意義の検討

著者	向田 直史
著者別表示	Mukaida Naofumi
雑誌名	平成13(2001)年度 科学研究費補助金 基盤研究(B) 研究成果報告書
巻	1998-2001
ページ	11p.
発行年	2002-03
URL	http://doi.org/10.24517/00050573





ケモカインならびにレセプターの分析法の 開発とその病態検査学的意義の検討

(研究課題番号 10557249)

平成10年度～平成13年度科学研究費補助金(基盤研究(B)(2))研究成果報告書

平成14年3月

研究代表者 向田 直史

(金沢大学・がん研究所・教授)

金沢大学附属図書館



8011-05251-9

はしがき

種々の刺激に応じて生じる炎症反応は、生体の防御反応として重要である。しかし、その一方で炎症反応が過剰に起きた場合には、組織障害が生じることとなる。したがって、炎症反応を適切に制御する方法の開発は、炎症反応が基盤に認められるほとんどすべての疾患の新たな治療法の確立につながることになる。

炎症反応の病態は、炎症の局所に浸潤してくる白血球の数・種類によって、大きく左右される。白血球浸潤を制御する因子として、インターロイキン8 (IL-8/CXCL8)、単球走化因子 (MCP-1/CCL2) を始めとする、ケモカインとして総称されている一群の生理活性物質が重要であることを示す研究結果が、研究代表者のグループを始めとする多くのグループから報告されている。これらの報告に基づき、これらのケモカインの測定法が開発され、その病態検査学的な意義の検討が多くのグループによってなされているが、未だその全容は明らかではない。

複数のケモカインが一つのレセプターを共有するとともに、逆に一つのケモカインが複数のレセプターと結合しているなど、非常に複雑な様相を呈していることも手伝い、ケモカイン・レセプターの発現の生体内での病態生理学的な意義は不明な点が多い。

ケモカインとケモカイン・レセプターの測定系を確立して、これらの測定系を用いて、以上の点を明らかにすることを目的に、本研究計画を企画した。

研究組織

研究代表者： 向田 直史 (金沢大学・がん研究所・教授)

研究分担者： 秋山 万里子 (金沢大学・がん研究所・助手) (平成10年度～11年度のみ分担)

交付決定額

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成10年度	5,300	0	5,300
平成11年度	3,600	0	3,600
平成12年度	1,900	0	1,900
平成13年度	1,900	0	1,900
総計	12,700	0	12,700

著 者 寄 贈

研究発表

(1) 学会誌など

1. Sonoda, Y., Kasahara, T., Mukaida, N., Shimizu, N., Tomoda, M., and Takeda, T. : Stimulation of interleukin-8 production by acidic polysaccharides from the root of *Panax ginseng*. *Immunopharmacol.* 38: 287-294, 1998.
2. Yokoyama, H., Wada, H., Furuichi, K., Segawa, C., Hisada, Y., Ohta, S., Kobayashi, K.-i., Su, S.-b., Mukaida, N., and Matsushima, K. : Urinary levels of chemokines (MCAF and IL-8) reflect distinct disease activities and phases of IgA nephropathy. *J. Leukocyte Biol.* 63: 493-499, 1998.
3. Mastronarde, J.G., Monick, M.M., Mukaida, N., Matsushima, K., and Hunninghake, G.W. : Activator protein (AP)-1 is the preferred transcription factor for cooperative interaction with nuclear factor (NF)- κ B in respiratory syncytial virus-induced interleukin (IL)-8 gene expression in airway epithelium. *J. Infect. Dis.* 177: 1275-1281, 1998.
4. Asagoe, K., Yamamoto, K., Takahashi, A., Suzuki, K., Maeda, A., Nohgawa, M., Harakawa, N., Takano, K., Mukaida, N., Matsushima, K., Okuma, M., and Sasada, M. : Downregulation of CXCR2 expression on human polymorphonuclear leukocytes by TNF- α . *J. Immunol.* 160: 4518-4525, 1998.
5. Roger, T., Out, T., Mukaida, N., Matsushima, K., Jansen, H., and Lutter, R. : Prolonged AP-1 activity and increased stability of IL-8 mRNA are implicated in superinduction of IL-8 mRNA by epithelial H292 cells. *Biochem. J.* 330: 429-435, 1998.
6. Sonoda, Y., Mukaida, N., Wang, J.-b., Shimada-Hiratsuka, M., Naito, M., Kasahara, T., Harada, A., Inoue, M., and Matsushima, K. : Physiologic regulation of postovulatory neutrophil migration into vagina by a C-X-C chemokine(s). *J. Immunol.* 160: 6159-6165, 1998.
7. Kimura, H., Kasahara, Y., Kurosu, K., Sugito, K., Takiguchi, Y., Terai, M., Mikata, A., Natsume, M., Mukaida, N., Matsushima, K., and Kuriyama, T. : Attenuation of monocrotaline-induced pulmonary hypertension by antibodies to a monocyte chemotactic and activating factor, MCAF/MCP-1. *Lab. Invest.* 78: 571-581, 1998.
8. Kasahara, T., Oda, T., Hatake, K., Akiyama, M., Mukaida, N., and Matsushima, K. : IL-8 and MCP-1 production by a human glioblastoma cell line, T98G in coculture with monocytes: involvement of monocyte-derived IL-1 α . *Eur. Cytokine Netw.* 9: 47-55, 1998.
9. Shimoya, K., Matsuzaki, N., Kameda, T., Sawai, K., Okada, T., Saji, F., Yasumoto, K., Su, S.-b., Mukaida, N., and Matsushima, K. : Regulation of placental monocyte chemotactic and activating factor during pregnancy and chorioamnionitis. *Mol. Hum. Reprod.* 4: 393-400, 1998.
10. Kasahara, Y., Kimura, H., Kurotsu, K., Sugito, K., Mukaida, N., Matsushima, K., and Kuriyama, T. : MCAF/MCP-1 protein expression in a rat model for pulmonary hypertension induced by monocrotaline. *Chest* 114: 67S, 1998.
11. Mori, N., Mukaida, N., Ballard, D.W., Matsushima, K., and Yamamoto, N. : Human T-cell leukemia virus type I Tax transactivates human interleukin 8 gene through acting concurrently on AP-1 and NF- κ B-like sites. *Cancer Res.* 58: 3993-4000, 1998.
12. Aihara, M., Azuma, A., Takizawa, H., Tsuchimoto, D., Funakoshi, Y., Shindo, Y., Ohmoto, Y., Imagawa, K., Kikuchi, M., Mukaida, N., and Matsushima, K. : Molecular analysis of

- suppression of interleukin-8 production by rebamipide in *Helicobacter pylori*-stimulated gastric cancer cell lines. *Dig. Dis. Sci.* 43: 174S-180S, 1998.
13. Oda, T., Kasahara, T., Matsuura, M., and Mukaida, N. : Nitric oxide-mediated modulation of interleukin-8 production by a human glioblastoma cell line, T98G, cocultured with myeloid and monocytic cell lines. *J. Interferon Cytokine Res.* 18: 905-912, 1998.
 14. Mukaida, N., Harada, A., and Matsushima, K. : Interleukin-8 and monocyte chemotactic and activating factor (MCAF/MCP-1), chemokines essentially involved in inflammatory and immune reactions. *Cytokine Growth Factor Rev.* 9: 9-23, 1998.
 15. Murayama, T., Mukaida, N., Khabar, K.S.A., and Matsushima, K. : Potential roles of Interleukin-8 in the pathogenesis of human cytomegalovirus (CMV) Infection. *J. Leukocyte Biol.* 64: 62-67, 1998.
 16. Mukaida, N., Matsumoto, T., Yokoi, K., Harada, A., and Matsushima, K. : Inhibition of neutrophil-mediated acute inflammatory injury by an antibody against interleukin-8 (IL-8). *Inflamm. Res.* 47: S151-S157, 1998.
 17. Mukaida, N., Wang, J.-b., and Matsushima, K. : CDw128 Workshop Panel: Human interleukin-8 (IL-8) receptors. In *Leukocyte Typing VI* (Kishimoto, T., Kikutani, H., von dem Borne, A.E.G. Kr., Goyert, S.M., Manson, D.Y., Miyasaka, M., Moretta, L., Okumura, K., Shaw, S., Springer, T.A., Sugamura, T., and Zola, H., eds.), Garland Press, New York, USA, pp. 840-843, 1998.
 18. Tsuji, H., Mukaida, N., Harada, A., Kaneko, S., Matsushita, E., Nakanuma, Y., Tsutsui, H., Okamura, H., Nakanishi, K., Tagawa, Y., Iwakura, Y., Kobayashi, K., and Matsushima, K. : Alleviation of lipopolysaccharide-induced acute liver injury in *Propionibacterium acnes*-primed IFN- γ -deficient mice by a concomitant reduction of TNF- α , IL-12, and IL-18 production. *J. Immunol.* 162: 1049-1055, 1999.
 19. Nokihara, H., Nishioka, Y., Yano, S., Mukaida, N., Matsushima, K., Tsuruo, T., and Sone, S. : Monocyte chemoattractant protein-1 gene modification of multidrug-resistant human lung cancer enhances antimetastatic effect of therapy with anti-P-glycoprotein antibody in SCID mice. *Int. J. Cancer* 80: 773-780, 1999.
 20. Wada, T., Furuichi, K., Sakai, N., Shimizu, M., Segawa, C., Kobayashi, K., Mukaida, N., Kasahara, T., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : Eotaxin contributes to renal interstitial eosinophilia. *Nephrol Dial Transplant* 14: 76-80, 1999.
 21. Vig, E., Green, M., Liu, Y., Donner, D.B., Mukaida, N., Goebel, M.G., and Harrington, M.A. : Modulation of tumor necrosis factor and interleukin-1-dependent NF- κ B activity by mPLK/IRAK. *J. Biol. Chem.* 274: 13077-13084, 1999.
 22. Hsu, M.H., Wang, M., Browning, D.D., Mukaida, N., and Ye, R.D. : NF- κ B activation is required for C5a-induced IL-8 gene expression in mononuclear cells. *Blood* 93: 3241-3249, 1999.
 23. Masamune, A., Shimosegawa, T., Masamune, O., Mukaida, N., Koizumi, M., and Toyota, T. : *Helicobacter pylori*-dependent ceramide production may mediate increased interleukin 8 expression in human gastric cancer cell lines. *Gastroenterology* 116: 1330-1341, 1999.
 24. Ebe, Y., Hasegawa, G., Takatsuka, H., Umezumi, H., Watanabe, H., Mitsuyama, M., Arakawa, M., Mukaida, N., Matsushima, K., and Naito, M. : The role of Kupffer cells and regulation of neutrophil migration into the liver by macrophage inflammatory protein-2 in primary listeriosis in mice. *Pathol. Int.* 49: 519-532, 1999.
 25. Ondrey, F., Dong, G., Sunwoo, J., Chen, Z., Wolf, J.S., Crawl-Bancroft, C.V., Mukaida, N.,

- and Van Waes, C. : Constitutive activation of transcription factors NF- κ B, AP-1 and NF-IL6 in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines that express proinflammatory and proangiogenic cytokines. *Molec. Carcinogenesis* 26: 119-129, 1999.
26. Natsume, M., Tsuji, H., Harada, A., Akiyama, M., Yano, T., Ishikura, H., Nakanishi, I., Matsushima, K., Kaneko, S.-i., and Mukaida, N. : Attenuated liver fibrosis and depressed serum albumin levels in carbon tetrachloride-treated IL-6-deficient mice. *J. Leukocyte Biol.* 66: 601-608, 1999.
 27. Kitadai, Y., Takahashi, Y., Haruma, K., Naka, K., Sumii, K., Yokozaki, H., Yasui, W., Ohmoto, Y., Mukaida, N., Kajiyama, G., Fidler, I.J., and Tahara, E. : Transfection of interleukin-8 gene increases angiogenesis and tumorigenicity of human gastric carcinoma cells in nude mice. *Br. J. Cancer* 81: 647-653, 1999.
 28. Fujimura, M., Myou, S., Nomura, M., Mizuguchi, M., Matsuda, T., Harada, A., Mukaida, N., and Matsushima, K. : Interleukin-8 inhalation directly provokes bronchconstriction in guinea pigs. *Allergy* 54: 386-391, 1999.
 29. Verma, M., Mukaida, N., Vollmer-Conna, U., Matsushima, K., Lloyd, A., and Wakefield, D. : Endotoxin-induced uveitis is partially inhibited by anti-IL-8 antibody treatment. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 40: 2465-2477, 1999.
 30. Xu, L., Xie, K., Mukaida, N., Matsushima, K., and Fidler, I.J. : Hypoxia-induced elevation in interleukin-8 expression by human ovarian cancer carcinoma cells. *Cancer Res.* 59: 5822-5829, 1999.
 31. Takahashi, Y., Kasahara, T., Sawai, T., Rikimaru, A., Mukaida, N., Matsushima, K., and Sasaki, T. : The participation of IL-8 in the synovial lesions at an early stage of rheumatoid arthritis. *Tohoku J. Exp. Med.* 188: 75-87, 1999.
 32. Wada, T., Furuichi, K., Segawa, C., Shimizu, M., Sakai, N., Takeda, S.-i., Takasawa, K., Kida, H., Kobayashi, K.-i., Mukaida, N., Ohmoto, Y., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : MIP-1 α and MCP-1 contribute to crescents and interstitial lesions via the cognate chemokine receptor in human crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int.* 56: 995-1003, 1999.
 33. Mori, N., Oishi, K., Sar, B., Mukaida, N., Nagatake, T., Matsushima, K., and Yamamoto, N. : Essential role of transcription factor nuclear factor- κ B in regulation of interleukin-8 gene expression by nitrite reductase from *Pseudomonas aeruginosa* in respiratory epithelial cells. *Infect. Immun.* 67: 3872-3878, 1999.
 34. Kunz, M., Hartmann, A., Flory, E., Toksoy, A., Koczan, D., Thiesen, H.-J., Muakida, N., Neumann, M., Rapp, U.R., Broeker, E.-B., and Gillitzer, R. : Anoxia-induced up-regulation of Interleukin-8 in human malignant melanoma. A potential mechanism for high tumor aggressiveness. *Am. J. Pathol.* 155:753-763,1999.
 35. Shi, Q., Le, X., Abbruzzese, J.L., Wang, B., Mukaida, N., Matsushima, K., Huang, S., Xiong, Q., and Xie, K. : Cooperation between transcription factor AP-1 and NF- κ B in the induction of interleukin-8 in human pancreatic adenocarcinoma cells by hypoxia. *J. Interferon Cytokine Res.* 19: 1363-1371, 1999.
 36. Ato, M., Iwabuchi, K., Matsui, N., Mukaida, N., Iwabuchi, C., Takahashi, A., Takayanagi, T., Dongdog, E.-M., Hatakeyama, S., Ishikura, H., Kato, M., Negishi, I., Nishihori, H., Watano, K., Ogasawara, K., Matsushima, K., Onoe, K. : Delayed clearance of zymogen-induced granuloma and depressed phagocytosis of macrophages with concomitant up-regulated kinase activities of src-family in a human monocyte chemoattractant

- protein-1 transgenic mouse. *Immunobiology* 201: 432-449, 2000.
37. Abe, S., Nakamura, H., Inoue, S., Takeda, H., Saito, H., Kato, S., Mukaida, N., Matsushima, K., and Tomoike, H. : Interleukin-8 gene repression by clarithromycin by AP-1 binding site in human bronchial epithelial cells. *Am. J. Respir. Cell. Molec. Biol.* 22: 51-60, 2000.
 38. Lee, L.F., Hellendall, R.P., Wang, Y., Haskill, J.S., Mukaida, N., Matsushima, K., and Ting, J.P. : IL-8 reduced tumorigenicity of human ovarian cancer in vivo due to neutrophil infiltration. *J. Immunol.* 164: 2769-2775, 2000.
 39. Nishihori, H., Tsuji, H., Wang, H., Tahara, H., Akiyama, M., Ogawa, Y., Matsushima, K., Iwakura, Y., and Mukaida, N. : Participation of endogenously produced interferon γ in interleukin-4-mediated tumor rejection. *Hum. Gene Therapy* 11: 659-668, 2000.
 40. Amano, H., Yamamoto, H., Senba, M., Oishi, K., Suzuki, S., Fukushima, K., Mukaida, N., Matsushima, K., Eguchi, K., and Nagatake, T. : Impairment of endotoxin-induced macrophage inflammatory protein 2 gene expression in alveolar macrophages in streptozotocin-induced diabetes in mice. *Infect. Immun.* 68: 2925-2929, 2000.
 41. Ueno, M., Sonoda, Y., Funakoshi, M., Mukaida, N., Nose, K., and Kasahara, T. : Differential induction of JE/MCP-1 in subclones from a murine macrophage cell line, RAW 254.7: Role of κ B-3 binding protein. *Cytokine* 12: 203-219, 2000.
 42. Wada, T., Furuichi, K., Sakai, N., Iwata, Y., Yoshimoto, K., Shimizu, M., Kobayashi, KI, Mukaida, N., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : A new anti-inflammatory compound, FR167653, ameliorates crescentic glomerulonephritis in Wistar-Kyoto rats. *J. Am. Soc. Nephrol.* 11: 1534-1541, 2000.
 43. Kitadai, Y., Haruma, K., Mukaida, N., Ohmoot, Y., Matsutani, N., Yasui, W., Yamamoto, S., Sumii, K., Kajiyama, G., Fidler, I.J., and Tahara, E. : Regulation of disease-progression genes in human gastric carcinoma cells by interleukin 8. *Clin. Cancer Res.* 6: 2735-2740, 2000.
 44. Furuichi, K., Wada, T., Sakai, N., Iwata, Y., Yoshimoto, K., Shimizu, M., Kobayashi, KI, Takasawa, K., Kida, H., Takeda, S., Mukaida, N., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : Distinct expression of CCR1 and CCR5 in glomerular and interstitial lesions of human glomerular diseases. *Am J. Nephrol.* 20: 291-299, 2000.
 45. Wada, T., Furuichi, K., Sakai, N., Iwata, Y., Yoshimoto, K., Shimizu, M., Takeda, S.I., Takasawa, K., Yoshimura, M., Kida, H., Kobayashi, K.I., Mukaida, N., Naito, T., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : Up-regulation of monocyte chemoattractant protein-1 in tubulointerstitial lesions of human diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 58: 1492-1499, 2000.
 46. Ostergaard, C., Yieng-Kow, R.V., Larsen, C.G., Mukaida, N., Matsushima, K., Benfield, T., Frimont-Moller, N., Espersen, F., Kharazmi, A., and Lundgren, J.D. : Treatment with a monoclonal antibody to IL-8 attenuates the pleocytosis in experimental pneumococcal meningitis in rabbits when given intravenously, but not intracisternally. *Clin. Exp. Immunol.* 122: 207-211, 2000.
 47. Iguchi, A., Kitajima, I., Yamakuchi, M., Ueno, S., Aikou, T., Kubo, T., Matsushima, K., Mukaida, N., and Maruyama, I. : PEA3 and AP-1 are required for constitutive IL-8 gene expression in hepatoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 279: 166-171, 2000.
 48. Murayama, T., Mukaida, N., Sadanari, H., Yamaguchi, N., Khabar, K.S., Tanaka, J., Matsushima, K., Mori, S., and Eizuru, Y. : The immediate early gene 1 product of human cytomegalovirus is sufficient for up-regulation of interleukin-8 gene expression. *Biochem.*

- Biophys. Res. Commun.* 279: 298-304, 2000.
49. Nokihara, H., Yanagawa, H., Nishioka, Y., Yano, S., Mukaida, N., Matsushima, K., and Sone, S. : Natural killer cell-dependent suppression of systemic spread of human lung adenocarcinoma cells by monocyte chemoattractant protein-1 gene transfection in severe combined immunodeficient mice. *Cancer Res.* 60: 7002-7007, 2000.
 50. Jiang, S., Naito, M., Kaizu, C., Kuwata, K., Hasegawa, G., Mukaida, N., and Shultz, L.D. : Lipopolysaccharide-induced cytokine and receptor expression and neutrophil infiltration in the liver of osteopetrosis (op/op) mutant mice. *Liver.* 20: 465-474, 2000.
 51. Mukaida, N. : Interleukin-8: an expanding universe beyond neutrophil chemotaxis and activation. *Int. J. Hematol.* 72: 391-398, 2000.
 52. Nakatani, T., Kaburagi, Y., Shimada, Y., Inaoki, M., Takehara, K., Mukaida, N., and Sato, S. : CCR4 memory CD4 T lymphocytes are increased in peripheral blood and lesional skin from patients with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 107: 353-358, 2001.
 53. Shinohara, T., Miki, T., Nishimura, N., Nokihara, H., Hamada, H., Mukaida, N., and Sone, S. : Nuclear factor- κ B-dependent expression of metastasis suppressor KAI1/CD82 gene in lung cancer cell lines expressing mutant p53. *Cancer Res.* 61: 673-678, 2001.
 54. Polyak, S. J., Khabar, K.S.A., Paschal, D.M., Ezelle, H.J., Duverlei, G., Barber, G.N., Levy, D.E., Mukaida, N., and Gretch, D.R. : Hepatitis C virus nonstructural 5A protein induces interleukin-8, leading to partial inhibition of the interferon-induced antiviral response. *J. Virol.* 75: 6095-6106, 2001.
 55. Zhang, X., Wang, J.M., Gong, W.H., Mukaida, N., and Young, H.A. : Differential regulation of chemokine gene expression by 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ prostaglandin J₂. *J. Immunol.* 166: 7104-7111, 2001.
 56. Smith, R.S., Fedyk, E.R., Springer, T.A., Mukaida, N., Iglewski, B.H., and Phipps, R.P. : IL-8 production in human lung fibroblasts and epithelial cells activated by the *Pseudomonas* autoinducer N³-oxododecanoyl homoserine lactone is transcriptionally regulated by NF- κ B and activator protein-2. *J. Immunol.* 167: 366-374, 2001.
 57. Wolf, J.S., Chen, Z., Dong, G., Sunwoo, J.B., Bancroft, C.C., Capo, D.E., Yeh, N.T., Mukaida, N., and Van Waes, C. : IL(interleukin)-1 α promotes nuclear factor- κ B and AP-1-induced IL-8 expression, cell survival, and proliferation in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 7: 1812-1820, 2001.
 58. de Wynter, E.A., Heyworth, C.M., Mukaida, N., Matsushima, K. and Yesta, N.G. : NOD/SCID repopulating cells but not LTC-IC are enriched in human CD34⁺ cells expressing the CCR1 chemokine receptor. *Leukemia* 15: 1092-1101, 2001.
 59. Hiraoka, S., Miyazaki, Y., Kitamura, S., Toyota, M., Kiyohara, T., Shinomura, Y., Mukaida, N., and Matsuzawa, Y. : Gastrin induces CXC chemokine expression in gastric epithelial cells through activation of NF- κ B. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 281(3): G735-G742, 2001.
 60. de Wynter, E.A., Heyworth, C.M., Mukaida, N., Jaworska, E., Weffort-Santos, A., Matsushima, K., Testa, N.G. : CCR1 chemokine receptor expression isolates erythroid from granulocyte-macrophage progenitors. *J. Leukoc. Biol.* 70(3): 455-460, 2001.
 61. Sakai, Y., Kaneko, S., Nakamoto, Y., Kagaya, T., Mukaida, N., and Kobayashi, K. : Enhanced anti-tumor effects of herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir system by codelivering monocyte chemoattractant protein-1 in hepatocellular carcinoma. *Cancer Gene Ther.* 8: 695-704, 2001.

62. Satoh, S., Oishi, K., Iwagaki, A., Senba, M., Akaike, T., Akiyama, M., Mukaida, N., Atsushima, K.M., and Nagatake, T. : Dexamethasone impairs pulmonary defence against *Pseudomonas aeruginosa* through suppressing iNOS gene expression and peroxynitrite production in mice. *Clin. Exp. Immunol.* 126: 266-273, 2001.
63. Wada, T., Furuichi, K., Sakai, N., Hisada, Y., Kobayashi, K., Mukaida, N., Tomosugi, N., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase followed by chemokine expression in crescentic glomerulonephritis. *Am. J. Kidney Dis.* 38: 1169-1177, 2001.
64. Furuichi, K., Wada, T., Iwata, Y., Sakai, N., Yoshimoto, K., Kobayashi, Ki., Mukaida, N., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : Administration of FR167653, a new anti-inflammatory compound, prevents renal ischaemia/reperfusion injury in mice. *Nephrol. Dial. Transplant.* 17: 399-407, 2002.
65. Kitamura, K., Nakamoto, Y., Akiyama, M., Fujii, C., Kondo, T., Kobayashi, Ki., Kaneko, S., and Mukaida, N. : Pathogenic roles of tumor necrosis factor receptor p55-mediated signals in dimethylnitrosamine-induced murine liver fibrosis. *Lab. Invest.* (in press).

(6、15、16、47、51、54の本文を収録している)

2) 口頭発表

1. Sonoda, Y., Mukaida, N., Wang, J.-B., Kasahara, T., Shimada-Hiratsuka, M., Naito, M., Harada, A., Inoue, M., and Matsushima, K. : Physiological regulation of post-ovulatory neutrophil migration into vagina in mice by a CXC chemokine. VIIth International Symposium on the Molecular and Cell Biology of Macrophages. June 18-19, 1998, Yamagata.
2. 西堀宗樹、向田直史 : IL-4 遺伝子導入による、抗腫瘍効果の機序の検討。第 57 回日本癌学会総会。1998 年 10 月 2 日、横浜。
3. 西堀宗樹、小川弥生、石倉浩、向田直史 : IL-4 遺伝子導入腫瘍細胞株による、抗腫瘍効果に関与する細胞およびサイトカインの検討。第 28 回日本免疫学会総会・学術集会。1998 年 11 月 4 日、横浜。
4. Mukaida, N., Wang, H., and Nishihori, H. : Enhanced expression of chemokine genes at draining lymph nodes of mice inoculated with IL-4-gene transfected cells. 15th International Congress of Society for Leukocyte Biology. Sept. 22-26, 1999, Cambridge, UK.
5. 向田直史、王暉、西堀宗樹 : IL-4 遺伝子導入による腫瘍拒絶反応へのケモカインの肝予についての検討。第 58 回日本癌学会総会。1999 年 9 月 30 日、広島。
6. 向田直史 : 受容体と疾患—免疫・アレルギーの立場から (サイトカイン・レセプターを中心に)。第 46 回日本臨床病理学会総会。シンポジウム「受容体と疾患」、1999 年 11 月 11 日、熊本。
7. 向田直史、Ye, Y. : C5a によるインターロイキン 8 (IL-8) 産生誘導機構の解析 : NF- κ B 活性化の関与。第 29 回日本免疫学会総会・学術集会。1999 年 12 月 1 日、京都。
8. Wang, H., Nishihori, H., and Mukaida, N. : Potential roles of chemokine expressed in draining lymph node, in interleukin(IL)-4-mediated tumor rejection. 9th International Symposium on Molecular and Cell Biology of Macrophages. June 5 and 6, 2000, Kyoto.
9. Mukaida, N., Sasakai, Y., and Wang, H. : Potential roles of monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 expressed in draining lymph nodes, in interleukin-4-mediated tumor

rejection. 3rd Joint Meeting of the Intl. Cytokine Society and Intl. Society of Interferon and Cytokine Research. November 5 to 9, 2000, Amsterdam.

10. 向田直史、秋山万里子、中本安成、金子周一：実験的肝線維症モデルにおける腫瘍壊死因子 (TNF- α) の役割の解析。第 21 回日本炎症学会。2000 年 7 月 4 日～5 日、東京。
11. 田村純子、倉島一喜、藤村政樹、中尾眞二、向田直史：卵白アルブミン (OVA) 感作による喘息モデルにおける IL-6 の役割の解析。第 30 回 日本免疫学会総会・学術集会。2000 年 11 月 14 日～16 日、仙台。
12. Wang, H., Sasaki, Y., and Mukaida, N. : Potential roles of monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 in interleukin-4-mediated tumor rejection. 第 30 回 日本免疫学会総会・学術集会。2000 年 11 月 14 日～16 日、仙台。
13. Mori, R., Kondo, T., Ishida, Y., Mukaida, N., and Ohshima, T. : Accelerated wound healing in TNF receptor p55 deficient mice with reduced leukocyte infiltration. Joint Meeting of the Society for Leukocyte Biology and International Cytokine Society. Nov. 8-11, 2001, Maui.
14. Mukaida, N., Qiu, Z., Tamura, J., and Kurashima, K. : Dual roles of IL-6 in airway hypersensitivity suggested by enhanced mucous secretion and reduced inflammatory cell infiltration in ovalbumin-challenged IL-6-deficient mice. Joint Meeting of the Society for Leukocyte Biology and International Cytokine Society. Nov. 8-11, 2001, Maui.
15. 北方秀一、佐々木洋子、高橋豊、磨伊正義、向田直史：TNFRp55 ノックアウトマウスを用いた肝転移抑制モデルの検討。第 10 回日本がん転移学会総会。2001 年 6 月 14～15 日、徳島。
16. 向田直史、王暉、佐々木洋子：インターロイキン 4 遺伝子導入による腫瘍拒絶反応へのケモカイン、単球走化因子 (MCP-1) の関与。第 5 回基盤的癌免疫研究会総会。2001 年 7 月 18～19 日、津。
17. 橋良哉、中本安成、金子周一、向田直史、小林健一：C 型慢性肝疾患の進展と血清中ケモカインに関する検討。第 60 回日本癌学会総会。2001 年 9 月 26～28 日、横浜。
18. 土山智也、金子周一、中本安成、酒井佳夫、本多政夫、向田直史、小林健一：自殺遺伝子と単球走化活性化因子を用いた bicistronic アデノウイルスベクターによる肝癌の免疫遺伝子治療。第 60 回日本癌学会総会。横浜。2001 年 9 月 26～28 日。
19. 北方秀一、佐々木洋子、高橋豊、磨伊正義、向田直史：TNFRp55 ノックアウトマウスにおける肝転移減少に関する検討。第 60 回日本癌学会総会。2001 年 9 月 26～28 日、横浜。
20. 加賀谷尚史、金子周一、中本安成、酒井佳夫、向田直史、小林健一：ケモカイン MCP-1 及び補助刺激分子 B7-1 を用いた大腸癌自殺遺伝子治療の増強効果。第 60 回日本癌学会総会。2001 年 9 月 26～28 日、横浜。
21. 稲沖真、佐藤伸一、向田直史：乾癬患者の末梢血と病変部皮膚における CCR4+CD8+メモリー T 細胞の増加。第 31 回日本免疫学会総会・学術集会。2001 年 12 月 11～13 日、大阪。
22. 北村和哉、秋山万里子、中本安成、金子周一、小林健一、向田直史：ジメチルニトロサミン (DMN) 誘発マウス肝線維症モデルにおける TNF レセプター (TNFR) p55 の役割。第 31 回日本免疫学会総会・学術集会。2001 年 12 月 11～13 日、大阪。
23. 向田直史、近藤稔和、北村和哉：アセトアミノフェンによる急性肝障害におけるインターフェロンの役割。第 31 回日本免疫学会総会・学術集会。大阪。2001 年 12 月 11～13 日、大阪。

3) 出版物など

1. Su, S.-b., Mukaida, N., and Matsushima, K. : Determination of expression of a C-C chemokine receptor CCR1 on various types of leukocytes. *Leukocyte Typing VI* , (Kishimoto, T., Kikutani, H., von dem Borne, A.E.G. Kr., Goyert, S.M., Manson, D.Y., Miyasaka, M., Moretta, L., Okumura, K., Shaw, S., Springer, T.A., Sugamura, T., and Zola, H., eds.), Garland Press, New York, USA, pp. 913-915, 1998.
2. Higashi, H., Mukaida, N., Harada, A., Watanabe, S., Ikeda, N., Suzuki, Y., and Matsushima, K.: Intervention of endotoxin shock through targeting leukocyte adhesion molecules. In *Prog. Clin. Biol. Res. (Proc. 3rd. Intl. Endotoxin Symposium)* 397: 327-334, 1998.
3. Mukaida, N. and Matsushima, K. : Interleukin 8 and its receptor. In *Encyclopedia of Immunology, IInd Ed.* (Roitt, I.M. and Delves, P.J., eds.), Academic Press, London, United Kingdom, pp. 1466-1471, 1998.
4. Khabar, K.S.A., Murayama, T., al-Ahdal, M.N., Mukaida, N., and Matsushima, K. : Interleukin-8 (IL-8) is induced by viruses, enhances cytomegalovirus and picornavirus replication and inhibits the antiviral action of interferon- α . In *Advances in Animal Virology* (Jameel, S., and Villarreal, L. eds.), Science Publisher Inc., Enfield, USA, pp. 323-335, 2000.
5. 向田直史 : 免疫系。「標準薬理学」第6版。(鹿取信監修、今井正・宮本英七編集) pp.401-415, 2001.

研究成果の概要

本研究は、IL-8/CXCL8 や MCP-1/CCL2 などのケモカインとそのレセプターの測定法を開発して、これらの測定法を用いて、これらの種々の病態での動態を検討することで、これらのケモカインならびにレセプターの病態生理学的意義を明らかにすることを目的とした研究である。本研究を通して、主な結果として、以下の研究成果を得た。

- 1) マウス・メスの排卵後に一過性に IL-8 の機能的ホモログである、マクロファージ炎症性蛋白 (MIP)・2 が、膺上皮内で周期的に産生され、しかも産生された MIP-2 が排卵後に認められる膺上皮への好中球浸潤を引き起こしていることを明らかにした。
- 2) 種々のヒト腎疾患でのケモカインの動態を検討した。その結果、IgA 腎症の急性型では尿中 IL-8 濃度が高く、尿中 MCP-1 濃度が検出感度以下であった。これに対して、腎不全への移行が多い慢性型では、尿中 MCP-1 濃度が上昇しているのに対して、尿中 IL-8 濃度の上昇は軽度であった。半月板形成性糸球体腎炎では、腎臓内で産生される MIP-1 α が半月板形成に関与するのに対して、MCP-1 は間質病変に関与していることを示唆する結果を得た。糖尿病腎症においては、間質のマクロファージが MCP-1 陽性であり、尿中 MCP-1 濃度も上昇していた。MIP-1 α ・RANTES に対するレセプターである CCR1・CCR5 の局在について検討したところ、CCR1-MIP-1 α が糸球体病変に、CCR5-RANTES が間質病変の成立に関与している可能性が示唆された。以上の結果から、慢性腎病変の成立には、MCP-1 と MIP-1 α ・RANTES が絡み合う形で関与していることが示唆された。
- 3) IL-8 の癌進展機構での役割の検索を行ない、以下の結果を得た。IL-8 遺伝子導入した癌細胞株を接種すると、接種部位での血管新生と腫瘍形成が亢進した。癌病巣での IL-8 発現を免疫染色ならびに *in situ hybridization* によって行なったところ、腫瘍の壊死近傍部位で IL-8 蛋白・mRNA の発現が認められた。壊死部の近傍は低酸素状態であると考えられるので、種々の癌細胞株を低酸素状態に暴露したところ、NF- κ B と AP-1 の 2 種類の転写因子が協調的に活性化されることによって、IL-8 遺伝子の転写が亢進することが明らかとなった。さらに、胃癌細胞株では IL-8 レセプターを発現していて、その結果 IL-8 に反応して転移関連遺伝子の発現が誘導されることを明らかにした。以上の結果は、IL-8 が癌進展過程によって癌細胞によって産生され、これがオートクリンの浸潤・転移に促進的に働く可能性が示唆された。
- 4) 肝癌細胞株では、異なる 2 種類の転写因子である PEA3 と AP-1 とが協調的に恒常的に活性化されることによって、IL-8 遺伝子転写が恒常的に起こり、その結果 IL-8 が恒常的に産生される可能性を示唆する結果を得た。さらに、C 型肝炎ウイルス感染患者の種々の血清ケモカイン濃度を測定したところ、血清 IL-8 濃度のみが、慢性肝炎ならびに肝硬変患者に比べて、肝癌患者において選択的に上昇していた。この結果とともに、C 型肝炎ウイルスのうち、nonstructural protein(NS)5A 蛋白遺伝子導入によって、種々のケモカインのうち、IL-8 遺伝子の転写と蛋白産生が誘導された。この IL-8 遺伝子転写の誘導には、IL-8 遺伝子のプロモーター領域上の AP-1 ならびに NF- κ B 結合部位が必要であるとともに、NS5A 蛋白の C 末端部分が必要であることも明らかとした。以上の結果は、C 型肝炎ウイルス患者では、IL-8 が産生され、これが病態の進展に密接に関与している可能性があることを示唆している。
- 5) ケモカイン・レセプターである CCR1 の臍帯血中の細胞での分布を検討したところ、CD34 陽性 CCR1 陽性細胞には、顆粒球/マクロファージの前駆細胞のほとんどが含まれるのに対して、CD34 陽性 CCR1 陰性細胞に赤芽球系の前駆細胞のほとんどが含まれることを明らかにした。したがって、CCR1 の発現の有無によって、臍帯血から赤芽球系細胞の前駆細胞を容易に分離できる可能性が示唆された。

今後、以上の研究成果に基づき、ケモカインならびにそのレセプターの種々の病態での動態を詳細に解明することによって、これらの測定法の臨床検査学的意義をさらに明らかになることが期待される。