

ケモカインならびにそのレセプターの病態生理学的役割の解析を通じた抗炎症剤の開発

著者	向田 直史
著者別表示	Mukaida Naofumi
雑誌名	平成11(1999)年度 科学研究費補助金 基盤研究(A) 研究成果報告書
巻	1998-1999
ページ	10p.
発行年	2000-03
URL	http://doi.org/10.24517/00050574



ケモカインならびにそのレセプターの
病態生理学的役割の解析を通じた抗炎症剤の開発

(課題番号 10044254)

平成10～11年度科学研究費補助金 (基盤研究(A)(2))
研究成果報告書

平成12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



8000-88992-7

4

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一方で、過剰な炎症反応は組織障害を生じることとなる。したがって、炎症反応を適切に制御する方法の開発は、炎症性疾患の新たな治療法の確立のために必須である。

炎症反応の病態は、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)・単球走化因子(MCP-1)を始めとするケモカインと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結果が、研究代表者のグループを始めとする複数のグループから報告されている。しかし、これらのケモカインやケモカインに対するレセプターの、個々の疾患における病態生理学的役割については、未だ不明な点が多い。

基礎ならびに臨床的な面で、ケモカインについて精力的な研究を進めている、外国人研究分担者との共同研究によって、未だ不明な点が多い、ケモカインの炎症反応における、病態生理学的役割を解明することによって、ケモカインを標的とした新たな抗炎症剤を開発する上での基礎的な知見をえることを目指して、本研究を企画した。

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： 笠原 忠 (共立薬科大学・薬学部・教授)

研究分担者： 秋山万里子 (金沢大学・がん研究所・助手)

研究分担者： 原田明久 (金沢大学・医学部・助手) (平成10年度のみ参加)

研究分担者： Joost J. Oppenheim (米国国立癌研究所・分子免疫調節研究部門・部長)

研究分担者： Christian G. Larsen (デンマーク王国国立・オーフス大学・医学部・助教授)

研究経費

平成10年度 4,600 千円

平成11年度 3,900 千円

計 8,500 千円

著 者 寄 贈

研究発表

(1) 学会誌など

1. 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.
2. 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.
3. 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.
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. 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.
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 chemoattractant 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. Miyamasu, M., Misaki, Y., Izumi, S., Takaishi, T., Morita, Y., Nakamura, H., Matsushima, K., Kasahara, T. and Hirai, K. : Glucocorticoids inhibit chemokine generation by human eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.* 101: 75-83, 1998
18. Terui, Y., Ikeda, M., Tomizuka, H., Kasahara, T., Ohtsuki, T., Uwai, M., Mori, M., Itho, T., Tanaka, M., Yamada, M., Shimamura, S., Miura, Y., and Hatake, K.: Identification of a novel apoptosis-inducing factor derived from leukemic cells: Endothelial interleukin-8, but not monocyte-derived, induces apoptosis in leukemic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 243: 407-411, 1998.
19. Terui, Y., Ikeda, M., Tomizuka, H., Kasahara, T., Ohtsuki, T., Uwai, M., Mori, M., Itho, T., Tanaka, M., Yamada, M., Shimamura, S., Ishizaka, Y., Ikeda, K., Ozawa, K., Miura, Y., and Hatake, K.: Activated endothelial cells induces apoptosis in leukemic cells by endothelial interleukin-8. *Blood* 92: 2672-2680, 1998
20. Yamaguchi, Y., Nishio, H., Kasahara, T., Ackerman, S.J., Koyanagi, H., and Suda, T.: Models of lineage switching in hematopoietic development: A new myeloid-committed eosinophil cell line (YJ) demonstrates trilineage potential. *Leukemia* 12: 1430-1439, 1998.
21. 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.
22. 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.

23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. Ebe, Y., Hasegawa, G., Takatsuka, H., Umezu, H., Watanabe, H., Mitsuyama, M., Arakawa, M., Mukaida, N., 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.
28. Ondrey, F., Dong, G., Sunwoo, J., Chen, Z., Wolf, J.S., Crowl-Bancroft, C.V., Mukaida, N., and Van Waes, C. : Constitutive activation of transcription factors NF- κ B, AP-1 and NF- $\text{I}\kappa\text{B}$ in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines that express proinflammatory and proangiogenic cytokines. *Molec. Carcinogenesis* 26: 119-129, 1999.
29. Natsume, M., Tsuji, H., Harada, A., Akiyama, M., Yano, T., Ishikura, H., Nakaishi, 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.
30. 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. : Interleukin-8 gene transfer results in enhanced angiogenesis and tumorigenicity of human gastric carcinoma cells. *Brit. J. Cancer* 81: 647-653, 1999.
31. 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.
32. 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: 2465-2470, 1999.
33. Xu, L., Xie, K., Mukaida, N., Matsushima, K., and Fidler, I.J. : Hypoxia-induced elevation in interleukin-8 expression by human ovarian carcinoma cells. *Cancer Res.* 59: 5822-5829, 1999.
34. 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.
35. 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 Intl.* 56: 995-1003, 1999.
36. 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.
 37. Kunz, M., Hartmann, A., Flory, E., Toksoy, A., Koczan, D., Thiesen, H.-J., Mukaida, N., Neumann, M., Rapp, U.R., Broecker, E.-B., and Gillitzer, R. : Anoxia-induced up-regulation of interleukin-8 in human malignant melanoma. *Amer. J. Pathol.* 155: 753-763, 1999.
 38. 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.
 39. 坂井宣彦、和田隆志、古市賢吾、高枝知香子、清水美保、岩田恭宣、吉本敬一、清水和朗、小林健一、竹田慎一、木田寛、向田直史、松島綱治、横山仁 : 急性進行性糸球体腎炎症候群(RPGN)の病型におけるMCAF/MCP-1の意義。日本腎臓学会誌 41: 704-711, 1999.
 40. Sonoda, Y., Watanabe, S., Matsumoto, Y., Yokota-Aizu, E, and Kasahara, T. : FAK is the upstream signal protein of the PI3-kinase-Akt survival pathway in hydrogen peroxide-induced apoptosis of a human glioblastoma cell line. *J. Biol. Chem.* 274: 10566-10570, 1999
 41. Miho, Y., Kouroku, Y, Fujita, E., Mukasa, T., Urase, K, Kasahara, T., Momoi, M., and Momoi, T. : bFGF inhibits the activation of caspase-3 and apoptosis of P19 embryonal carcinoma cells during neuronal differentiation. *Cell Death Differentiation* 6: 463-470, 1999.
 42. Nagaishi, K., Adashi, R., Sasaki, H., Kawanishi, T., Yamaguchi, T., Mogami, T., Kasahara, T., Hayakawa, T., and Suzuki, K. : Participation of cofilin in opsonized zymosan-triggered activation of neutrophil-like HL-60 cells through rapid dephosphorylation and translocation to plasma membranes. *J. Biochem.* 125 : 891-898, 1999.
 43. Fujii, T., Tajima, S., Yamada, S., Watanabe, Y., Sato, K., Matui, M., Misawa, H., Kasahara, T., and Kawashima, K. : Constitutive expression of mRNA for the same choline acetyltransferase as that in the nervous system, an acetylcholine-synthesizing enzyme, in human leukemic T cell lines. *Neurosci. Lett.* 259: 71-74, 1999.
 44. Mori, M., Terui, Y., Ikeda, M., Tomizuka, H., Uwai, M., Kasahara, T., Kubota N, T., Itoh, T., Tanaka, M., Yamada, M., Shimamura, S., Ishizaka, Y., Ikeda, K., Ozawa, K., Miura, Y., and Hatake, K. : β 2-microglobulin identified as an apoptosis-inducing factor and its characterization. *Blood* 94 : 2744-2753, 1999.
 45. Nagaishi, K., Sasaki, H., Adashi, R., Matsui, S., Mogami, T, Yamaguchi, T, Kasahara, T., Hayakawa, T., and Suzuki, K. : Herbimycin A inhibits both dephosphorylation and translocation of Cofilin induced by opsonized zymosan in macrophage-like U937 cells. *J. Cell. Physiol.* 180 : 345-354, 1999.
 46. Terui, Y., Tomizuka, H., Mishima, Y., Ikeda, M., Kasahara, T., Uwai, M., Mori, M., Itoh, T., Tanaka, M., Yamada, M., Shimamura, S., Ishizaka, Y., Ozawa, K., and Hatake, K. : NH₂-terminal pentapeptide of endothelial IL-8 is responsible for the induction of apoptosis

- and has an antitumor effect in vivo. *Cancer Res.* 59: 5651-5655, 1999.
47. Miyamasu, M., Nakajima, T., Misaki, Y., Izumi, S., Tsuno, N., **Kasahara, T.**, Morita, Y., and Hirai, K. : Dermal fibroblasts represent a potent major source of human eotaxin: In vitro production and cytokine-mediated regulation. *Cytokine* 11: 751-758, 1999.
 48. Ato, M., Iwabuchi, K., Matsuki, N., **Mukaida, N.**, Iwabuchi, C., Takahashi, A., Takayanagi, T., Dondog, E.-M., Hatakeyama, S., Ishikura, H., Kato, M., Negishi, I., Nishihori, H., Watano, K., Ogasawara, K., Matsushima, K., and Onoe, K. : Delayed clearance of zymosan-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..
 49. 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.
 50. 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 (5) :2769-2775, 2000.
 51. 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, RAW264.7: Role of κ B-3 binding protein. *Cytokine* (in press).

(1、6、7、14、21、25、33、35 の本文は収録している)

(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 Cell Biology of Macrophages, June 18-19, 1998, Yamagata.
2. Ueno, M., **Kasahara, T.**, Sonoda, Y., and **Mukaida, N.** : Differential induction of JE/MCP-1 in subline from a murine macrophage cell line, RAW264.7: Role of NF- κ B-like binding protein. VIIth International Symp on the Molecular Cell Biology of Macrophages, June 18-19, 1998, Yamagata.
3. Sonoda, Y., Watanabe, S., Yokota-Aizu, E., and **Kasahara, T.** : Overexpression of focal adhesion kinase reduces oxidative stress-induced apoptosis of a human promyelocyte cell line, HL-60 subline. 33rd Annual Meeting, Society Leukocyte Biology, Aug. 22-25, 1998, San Diego.
4. 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。
5. 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、

- 神戸。
6. 祖山晃子、浦瀬香子、藤田恵理子、笠原 忠、桃井隆：レチノイン酸による P19 分化過程に発現する遺伝子の解析（2）上皮組織、神経組織に発現する RA17。第 71 回日本生化学会、1998 年 10 月 16 日、名古屋。
 7. 三保泰子、浦瀬香子、笠原 忠、桃井隆：神経細胞分化過程における細胞死の制御機構。第 71 回日本生化学会。1998 年 10 月 16 日、名古屋。
 8. 横田恵理子、園田よし子、太田成男、笠原 忠：アラキドン酸リポキシゲナーゼ阻害薬で誘導されるアポトーシスにおける caspase 活性化と Bcl-2 ファミリータンパク質。第 71 回日本生化学会。1998 年 10 月 16 日、名古屋。
 9. 松井幸子、安達玲子、佐々木晴代、山口照英、笠原 忠、早川堯夫、鈴木和博：白血球機能の発現におけるコフィリンの役割とチロシンキナーゼの関与について。第 28 回日本免疫学会総会・学術集会。1998 年 12 月 4 日、神戸。
 10. Watanabe, S., Sonoda, Y., Ueno, M., Yokota-Aizu, E., Makuta, Y., and Kasahara, T. : FAK is the upstream signal protein of the PI3K-Akt survival pathway in hydrogen peroxide-induced apoptosis of a human glioblastoma cell line. 第 28 回日本免疫学会・学術集会。1998 年 12 月 4 日、神戸。
 11. Mukaida, N., Wang, H., and Nishihori, H. : Enhanced expression of chemokine genes at draining lymph node of mice inoculated with IL-4-gene transduced cells. 15th International Congress of Society for Leukocyte Biology, Sept. 22-26, 1999, Cambridge, UK.
 12. Funakoshi, M., Ueno, M., Sonoda, Y., Mukaida, N., and Kasahara, T. : κ B-3 site of the JE/MCP-1 gene is essential for the LPS stimulation. Differential induction of JE/MCP-1 in sublines from murine macrophage cell line, Raw264.7. 1st International Congress on Cytokines, Chemokines in Infectious Diseases. Sep. 8-10, 1999, Bethesda, USA.
 13. Kasahara, T., Makuta, Y., Funakoshi, M., Aizu-Yokota, E., and Sonoda, Y. : IL-10 increases CCR5 expression in differentiated HL-60 cells through activation of MAPK and STATs. VIIth International Symposium on the Molecular Cell Biology of Macrophages, June, 1999, Tokyo.
 14. 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関与についての検討。第 58 回日本癌学会総会。1999 年 9 月 30 日、広島。
 15. 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。
 16. 向田直史、Richard Ye：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・学術集会。1999 年 12 月 1 日、京都。
 17. 松井幸子、安達玲子、永石恵子、山口照英、笠原 忠、早川堯夫、鈴木和博：白血球の活性化時におけるコフィリンの動的変化と蛋白質リン酸化酵素の関与。第 20 回日本炎症学会。1999 年 6 月、仙台。
 18. 横田恵理子、日下部晃子、山田裕実、園田よし子、岸 賢治、笠原 忠：好酸球分化の指標としての eosinophil peroxidase およびケモカインレセプター CCR3 の発現とその制御。第 72 回日本生化学会。1999 年 10 月、横浜。
 19. 松本弥恵子、渡部史朗、横田恵理子、園田よし子、笠原 忠：ヒト骨髄性白血病細胞株 HL-60 における focal adhesion kinase (FAK) の過剰発現はアポトーシスを抑制する。第 72 回日本生化学会。1999 年 10 月、横浜。

20. 船越めぐみ、多胡憲治、富永真一、園田よし子、笠原 忠：IL-1 刺激によるヒト グリオーマ細胞株 T98G での IL-8 産生誘導における TRAF6 の関与について。第 72 回日本生化学会。1999 年 10 月、横浜。
21. 日下部晃子、横田恵理子、小田泰子、園田よし子、笠原 忠：正常ヒト肺繊維芽細胞におけるエオタキシン産生機序。第 29 回日本免疫学会総会・学術集会。1999 年 12 月、京都。
22. 松井幸子、安達玲子、楠井 薫、山口照英、早川堯夫、笠原 忠、鈴木和博：マクロファージ様 U937 細胞の活性化におけるコフィリンの動態とリン酸化酵素の 関わりについて。第 29 回日本免疫学会総会・学術集会。1999 年 12 月、京都。
23. 船越めぐみ、幕田陽子、園田よし子、笠原 忠：IL-10 はマクロファージ様に分化した HL-60 において STAT3 および MAPK を介し CCR5 発現を誘導する。第 29 回日本免疫学会総会・学術集会。1999 年 12 月、京都。

(3) 出版物など

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 向田直史：アレルギー性炎症とケモカイン。現代医療。 30: 800-806, 1998.
6. 向田直史：ケモカインの産生制御分子機構。最新医学。 53: 821-827, 1998.
7. 向田直史：急性炎症と IL-8。血液・免疫・腫瘍。 3: 25-30, 1998.
8. 向田直史：IL-8 遺伝子の転写活性化調節機構。アレルギー科。 5: 386-395, 1998.
9. 向田直史：炎症におけるケモカイン。月刊細胞。 10: 382-385, 1998.
10. 向田直史、村山次哉：インターロイキン 8 の遺伝子発現調節機構。臨床病理。 46: 821-828, 1998.
11. 向田直史：アレルギー性炎症とケモカイン。アレルギー科。 7: 89-97, 1999.
12. 向田直史、和田隆志：急性炎症から慢性化過程におけるケモカインの役割。医学のあゆみ。190: 789-793, 1999.

研究成果の概要

本研究は、IL-8・MCP-1を始めとするケモカインとそのレセプターの種々の病態での役割の解明を通して、新たな種類の抗炎症剤の開発のための基礎的知見を得ることを、目的とした共同研究である。

Oppenheim 博士・Larsen 博士との討議を通して、以下の研究成果を発表することができた。

1) マウス・メスに排卵後に一過性に 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、膈上皮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膈上皮への好中球浸潤を引き起こしている事を明らかにした。

2) モノクロタリン投与ラットに認められる肺高血圧の発症に先行して、肺において MCP-1 の産生が認められた。モノクロタリン投与時に抗 MCP-1 抗体を投与することによって、肺へのマクロファージ浸潤と肺高血圧の発症がともに抑制された。

3) IgA 腎症の急性型では、尿中 IL-8 が高いにもかかわらず、MCP-1 は検出されなかった。腎不全への移行が多い慢性型では、尿中 MCP-1 濃度が高値であるにもかかわらず、尿中 IL-8 濃度の上昇は軽度であった。2・3の結果から、MCP-1 がマクロファージ依存性に起きる慢性炎症反応の成立に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

4) さらに、種々の腎疾患でのケモカインの動態を検討したところ、半月板形成性腎炎では、腎臓内で産生される macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α)が半月板形成に関与するのに対して、monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)が間質質変の成立に関与していることを示唆する結果を得た。さらに、好酸球浸潤の認められた間質性腎炎では、好酸球遊走能を保有するエオタキシン発現が腎臓内で選択的に亢進している結果を認めた。

5) 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 遺伝子を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ともに腫瘍形成が亢進する事から、IL-8 の血管新生作用を確認した。がん病巣での IL-8 の発現を、免疫染色ならびに in situ hybridization にて検討した。その結果、腫瘍の壊死部の近傍で 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、種々のがん細胞株を低酸素状態に暴露したところ、IL-8 遺伝子の転写ならびに産生が誘導された。低酸素状態による IL-8 遺伝子の発現誘導は、NF- κ B ならびに AP-1 という異なる 2 種類の転写因子の活性化を介していることが明らかになった。さらに胃癌組織中の癌細胞そのものが、IL-8 レセプターを発現していることも明らかになった。

6) 活性化補体第 5 成分 (C5a) 刺激によって、単球細胞株で NF- κ B ならびに AP-1 が活性化されることによって、IL-8 遺伝子転写ならびに蛋白産生が誘導されることが明らかになった。

これらの研究と並行して、Propionibacterium acnes でプライミングしたマウスに致死量以下のリポ多糖類を投与することによって起きる急性肝障害の成立に、インターフェロン γ が、一部は直接的に肉芽腫形成を、一部は腫瘍壊死因子・IL-12・IL-18 の産生を制御することを通して、密接に関与していることを明らかにした。

さらに、Oppenheim 博士とはマウス・リンパ腫の腎臓への転移過程へのケモカインの関与について、Larsen 博士とは IL-10 の機能的ドメイン・ペプチド投与時のケモカインを始めとしたサイトカインの生体内の動態について、共同研究を現在行なっている。