

5) 腎炎におけるサイトカイン

新潟大学医学部腎研究施設構造病理学分野 (主任: 木原 達)
山 本 格

Cytokines in Glomerulonephritis

Tadashi YAMAMOTO

*Department of Pathology, Institute of Nephrology,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Itaru KIHIRA)*

Cytokines have been noted as important peptides for various intercellular communications in pathologic or physiologic conditions. Their involvement in the induction or progression of glomerulonephritis has been demonstrated, however, the significant roles of cytokines in glomerulonephritis have not been fully clarified. Evidence for cytokine involvement in experimental and human glomerulonephritis, and several studies aimed to show significance of cytokines in the glomerulonephritis are reviewed in this article.

Key words: cytokines, glomerulonephritis

ヒト糸球体腎炎はその組織病変の特徴からいくつかの病型に分類されているが、大別すると糸球体に白血球系細胞の集積が顕著な急性炎症型と糸球体固有細胞の増殖や細胞外基質の増加が顕著な慢性炎症型に分けられる。サイトカインが発見される以前は急性炎症型糸球体腎炎の発症は主に糸球体に沈着あるいは糸球体で形成された免疫複合体が補体などの血漿成分を活性化し、その結果生ずる白血球遊走因子などにより白血球が糸球体に集積し、その白血球は補体受容体や免疫グロブリンの Fc 部分を認識する受容体で免疫複合体と免疫粘着反応を起こし活性化され、蛋白分解酵素などを放出し、糸球体組織を傷害するというドグマで説明されていた。しかし、このドグマでは説明のつきにくい点がいくつかあったが、近年発見され免疫反応や炎症反応における細胞間情報伝達で中心的役割を演ずるサイトカインが、糸球体腎炎に

においてもその成立に関与し、糸球体腎炎成立の古典的ドグマで説明がつきにくかった点が説明がつくようになりつつある。そこで糸球体腎炎へのサイトカインの関与がどこまで明らかにされているかをここで概説してみた¹⁾²⁾。

I. 糸球体腎炎へのサイトカインの関与

さまざまなサイトカインが発見され、その多様な活性から炎症の成立に深く関与するものが明らかになっている。例えば、炎症部位で産生される IL-1 や TNF α などのサイトカインはその部位の血管内皮細胞に働き、白血球と内皮細胞間の接着に重要な ICAM-1 などの接着分子を誘導し、白血球の炎症部位への集積に寄与している。また、IL-8 や MCP-1 などは白血球遊走活性を持つサイトカイン (ケモカイン) として炎

Reprint requests to: Tadashi YAMAMOTO
Department of Pathology, Institute of
Nephrology, Niigata University School of
Medicine, 1-757 Asahimachi-dori, Niigata
City, 951-8510, JAPAN

別刷請求先:
〒951-8510 新潟市旭町通り 1 番町 757
新潟大学医学部 腎研究施設 構造病理学分野
山 本 格

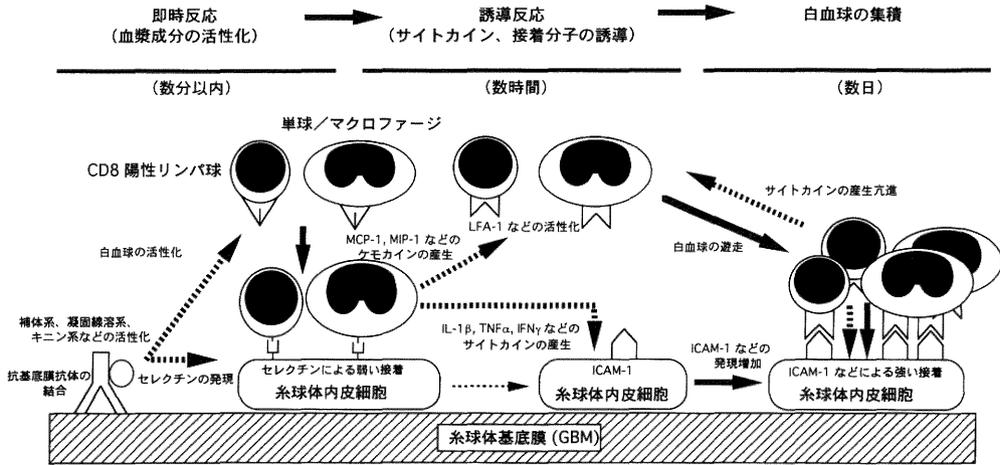


図1 推定される WKY ラット抗基底膜腎炎の白血球の集積機序

抗基底膜抗体が糸球体基底膜に結合するとただちに血漿中の補体、凝固線溶系、キニン系などが活性化される。そこで作られるさまざまな因子は単球、CD8陽性リンパ球、糸球体内皮細胞を活性化し、糸球体に軽度の白血球浸潤を引き起こす。こうして糸球体に集積し、そこで活性化された単球、CD8陽性リンパ球は種々のサイトカインを産生する。産生されたサイトカインは単球、CD8陽性リンパ球の遊走を促進したり、それらの接着分子を活性化し、同時に内皮細胞の接着分子の発現量を増加させることで、より多くの白血球を糸球体に集積させる。

症部位への白血球の集積に働いている。その他、PDGFやTGF- β などの増殖活性を持つサイトカインは炎症部位での細胞増殖や細胞外基質の増加を促進している。

糸球体腎炎でも糸球体への白血球の集積や糸球体細胞の増殖、細胞外基質の産生促進にサイトカインが機能していることが分かってきている³⁻⁶⁾。実験的糸球体腎炎モデルやヒト糸球体腎炎でもサイトカインは糸球体細胞や白血球の接着分子を活性化したり誘導したり、糸球体細胞増殖促進や細胞外基質の産生促進すること、ケモカインが糸球体で産生されていることが明らかになってきた。サイトカインの糸球体腎炎への関与はだまかに白血球の活性化と糸球体細胞の活性化の二つの作用点に分けることができる。前者は白血球に作用し、白血球の接着分子などを活性化したり、白血球遊走因子として働くことで白血球の糸球体への集積を促進し、白血球からの組織傷害性に働く因子を放出することで、糸球体傷害に関与すると考えられる。一方、サイトカインは糸球体細胞に作用しそれらを活性化し、白血球の集積に重要な接着分子の発現を促進したり、糸球体細胞の増殖や細胞外基質産生を促進し、それにより糸球体の解剖学的構築を破壊し糸球体機能障害に進展させることが示されつつある(図1)⁷⁾。

II. 糸球体腎炎へのサイトカインの関与の証明

これまで、サイトカインが実験的糸球体腎炎やヒトの糸球体腎炎に関与していることは次のような根拠で示されている。1) 糸球体腎炎のある糸球体に免疫組織化学法やノーザン法などでサイトカインが蛋白質レベルやmRNAレベルで存在したり、その量が増加している。2) 糸球体腎炎モデルでサイトカインを抑制する抗体やアンタゴニストを投与したり、過剰のサイトカインを投与すると糸球体腎炎が抑制されたり、増悪するなどの修飾をうける。3) 特定のサイトカインだけが過剰に発現するようにしたトランスジェニックマウスや特定のサイトカインの遺伝子を糸球体の細胞に組み入れてやることで糸球体腎炎に類似した組織病変を起こすことができる。4) ヒトの糸球体腎炎患者の尿中にサイトカインの排泄が増加している。以下にこれらのことがどのようにして示されてきたのかとその結論の問題点についても述べてみたい。

糸球体腎炎モデルで糸球体や腎組織でいくつかのサイトカインが増加していることが数多く、報告されている(表1)。私共が行ったWKYラットに少量の抗糸球体基底膜抗体を投与することで発症する糸球体腎炎モデル

表1 糸球体腎炎とサイトカイン

A 糸球体腎炎の糸球体で検出されるサイトカイン

モデル/ヒト腎炎	サイトカイン	検出方法	検出部位	主な文献
ラット免疫複合体型腎炎	IL-1	ノーザン法, ISH法*	腎臓, メサングウム細胞	J Immunol 138:3207, 1987
ラット抗基底膜型腎炎	IL-1, TNF α , MCP-1	RPA法*	糸球体	J Am Soc Nephrol 8: 1174, 1997
ラットアミノヌクレオチド腎症	TNF α , IL-1 β , PDGF, TGF β , IGF-1	免疫組織化学法, PCR*法	マクロファージ, 糸球体	Lab. Invest. 64: 21, 1991
ラット抗Thy-1腎炎	IL-1 β , PDGF, TGF β	RPA法, ノーザン法, 免疫組織化学法	糸球体, メサングウム細胞	PNAS USA. 88:6560, 1991
ラット5/6腎摘モデル	PDGF	免疫組織化学法, ノーザン法	糸球体	Kidney Int. 41: 297, 1992
マウスIgA腎症	PDGF	免疫組織化学法, ノーザン法	糸球体, 末梢血単球	Lab. Invest. 65: 160, 1991
マウスルーブス腎炎	TNF α , IL-1 β , PDGF, TGF β , CSF-1*	ノーザン法, ISH法	腎皮質, 糸球体	Kidney Int. 43: 1000, 1993
ヒトメサングウム増殖性腎炎	IL-6, IL-8	IL-6活性, 免疫組織化学法, IL-8定量	尿中, 糸球体	Kidney Int. 46: 455, 1994
ヒトIgA腎炎	IL-6, PDGF, IGF-I, IGF-II, IL-1 α , IL-1 β , IL-8, TNF α , TGF β	IL-6活性, 免疫組織化学法, ノーザン法	尿中, 糸球体, 末梢血単球	Am J Nephrol 11: 171, 1991
ヒトルーブス腎炎	IL-6	免疫組織化学法, ISH法	単球, マクロファージ	Kidney Int. 44: 825, 1993
		IL-6活性	尿中	J Immunol 147: 117, 1991

B サイトカインの抑制による糸球体腎炎の抑制

モデル/ヒト腎炎	抑制したサイトカイン	抑制方法	効果	文献
ラット抗Thy-1腎炎	PDGF TGF β TGF β	抗PDGF抗体 抗TGF β 抗体, decorin TGF β receptor-IgG chimera	メサングウム細胞増殖の抑制 基質の増加の抑制	J Exp Med 175: 1413, 1992 Nature 346: 371, 1990
ラット抗基底膜型腎炎	TGF β , PDGF TNF α , IL-1, CINC*	TGF β , PDGF antisense 抗TNF α 抗体, IL-1, receptor antagonist 抗CINC抗体	基質とメサングウム細胞増殖の抑制 糸球体腎炎の抑制	J Am Soc Nephrol 7: 1735, 1996 Exp Nephrol 5: 126-131, 1997
ラットアドリアマイシン腎炎	IL-1	抗IL-1抗体	白血球集積の抑制	J Clin Invest. 93: 272, 1994
ウサギ免疫複合体型腎炎	IL-8	抗IL-8抗体	蛋白尿の軽減	J Clin Invest. 94: 337, 1994
マウスルーブス腎炎	IL-10	抗IL-8抗体	白血球集積の抑制 腎組織傷害の改善	APMIS 100: 401, 1992 J Exp Med 180: 1135, 1994 J Exp Med 179: 305, 1994

C サイトカイン投与や過剰発現による糸球体腎炎の変化

モデル/ヒト腎炎	投与されたサイトカイン	効果	文献
ラット抗基底膜型腎炎	TNF α , IL-1 β	糸球体腎炎の悪化	J Immunol 142: 3083, 1989
マウスルーブス腎炎	TNF α	糸球体腎炎の悪化	Cytokine 3: 551, 1991
マウスIgA腎炎	IL-1 α , IL-6	糸球体腎炎の悪化	Kidney Int. 42: 341, 1992
ラット抗Thy-1腎炎	basic FGF	メサングウム増殖の促進	J Clin Invest. 90: 2362, 1992

* ISH: In Situ Hybridization, RPA: RNase: ribonuclease protection assay, PCR: polymerase chain reaction, CSF 1: colonystimulating factor 1, CINC: cytokine-induced neutrophil chemoattractant.

を一例として示すと、このモデルは CD8 陽性リンパ球と単球、マクロファージの糸球体集積と半月体形成、蛋白尿に特徴づけられる糸球体腎炎モデルで⁸⁾、その発症にはサイトカインと接着分子が関与していることが以下の結果で示されたのである。すなわち、糸球体への白血球の集積と糸球体内皮細胞の ICAM-1 の発現増加が平行していたことからこの分子を介する白血球の集積機序が推定された。そこで、この動物に ICAM-1 やそれと結合する白血球の接着分子 (β 2 インテグリン) である LFA-1 に対する抗体 (抗 CD11a 抗体) を投与して ICAM-1 と LFA-1 との接着を阻害すると糸球体への白血球の集積、半月体形成、蛋白尿が完全に抑制されたのである⁹⁾。内皮細胞の ICAM-1 の発現増加はサイトカインの IL-1 β , TNF α , IFN γ などで誘導されることが培養細胞などで明らかになっているので、これらのサイトカインの産生がこのモデルの糸球体で亢進しているかどうかを調べると、これらのサイトカインの mRNA の糸球体発現が ICAM-1 の発現に平行していることも分かった。また、白血球の遊走因子として働くサイトカイン (ケモカイン) の中でも単球、マクロファージの遊走に強く働く MCP-1 などの mRNA の糸球体発現量は単球、マクロファージの糸球体への集積数と相関していることを見いだした⁸⁾。これらのことからこの糸球体腎炎のモデルでは IL-1 β , TNF α , IFN γ などのサイトカインが糸球体内皮細胞の ICAM-1 の発現を増加させ、MCP-1 などのケモカインが単球、マクロファージの白血球遊走因子として作用したり、白血球の LFA-1 分子を活性化し、それらの糸球体内皮細胞への接着を促進することがこの糸球体腎炎における白血球集積機序であると考えられた。さらに、白血球の糸球体集積を抑えると組織病変も蛋白尿も抑えられたことから白血球は糸球体傷害に主要な役割を演じていると考えられた。

ヒトの糸球体腎炎の発症にサイトカインが関与していることは免疫組織化学法や組織切片上で mRNA の存在を証明する In situ hybridization 法、生検材料から得た糸球体中の mRNA を reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法で検索し、IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF α などを検出したという報告や糸球体腎炎患者では尿中に高値のサイトカインが検出されるという報告で示されている (表 1)。

III. 糸球体腎炎におけるサイトカインの意義

上述のように実験的糸球体腎炎でもヒトの糸球体腎炎

でもその発症にサイトカインが関与していることは確かなものとなりつつある。しかし、糸球体腎炎の成立にサイトカインが主たる役割を演じているのかどうかは必ずしも明らかになったとは言えない。それを調べる試みとしてサイトカインの発現や機能を抑制して糸球体腎炎への影響をみたり、反対にサイトカインを過剰に発現させたり、外から投与して糸球体腎炎がどのようになるかが検討されてきた。

ラットの抗基底膜抗体腎炎で IL-1 がその受容体に結合するのを特異的に阻害する IL-1 レセプターアンタゴニスト (IL-1 RA) を投与すると糸球体への白血球細胞浸潤や尿蛋白量が約半分に抑えられたこと¹⁰⁾ やウサギの免疫複合体型腎炎の糸球体への白血球集積が抗 IL-8 抗体投与で抑制されたこと¹¹⁾ などからこれらのモデルでは IL-1 や IL-8 が重要な役割を演じていると推定される (表 1)。一方、糸球体腎炎モデルで IL-1 や TNF α などのサイトカインを追加的に投与すると炎症が増悪すること¹²⁾ や正常なラットの糸球体メサンギウム細胞にヒトの PDGF や TGF- β 遺伝子を導入し、それらを過剰に発現させると PDGF ではメサンギウム細胞が増殖し、TGF β では細胞外基質の増加が起きることが示された (表 1)¹³⁾。これらのことから、これらのサイトカインが糸球体で過剰に産生されるとメサンギウム細胞が増殖したり、メサンギウム基質が増加し、メサンギウム増殖性腎炎のような組織病変が形成されると推定されている。

IV. 今後の展望

多種類の他作用をもつサイトカインが複雑なネットワークを形成し、糸球体腎炎の成立に関与していることは新たなサイトカインが発見され、その数が増えると共に、糸球体腎炎に関与するサイトカインの数も増加していることから明らかである。今後はサイトカインネットワークの詳細が明らかにされ、それぞれのサイトカインの役割とその関与の軽重が計られねばならない。そうすることで糸球体腎炎において主として組織傷害に関与するサイトカインやその作用機序が明らかになり、それを阻害する治療法なども開発されてゆくであろう。

参 考 文 献

- 1) 山本 格: 糸球体腎炎とサイトカイン. 現代病理学大系 補遺 3: 77-83, 1996.
- 2) Johnson, R.J.: Role of cytokines and growth factors in glomerulonephritis: A chance for future

- therapeutic intervention. *Nephron* 73: 506~514, 1996.
- 3) 宮崎 滋, 山本 格: 腎疾患とサイトカイン. *臨床医*, 19: 96~99, 1993.
 - 4) 川崎克俊: 細胞接着分子と腎疾患. *腎と透析*, 33: 383~391, 1992.
 - 5) 藤中秀彦, 山本 格: サイトカインと腎炎. *医学のあゆみ*, 171: 557-561, 1994.
 - 6) 小出 輝: 腎炎とサイトカイン. *日本腎臓学会誌*, 36: 183~193, 1994.
 - 7) Yamamoto, T., Fujinaka, H., Kawasaki, K., Yaita, E., Feng, L., Wilson, C.B. and Kihara, I.: CD 8 + lymphocytes play a central role in the development of anti-GBM nephritis through induction of ICAM-1 and chemokines in WKY rats. *Contrib. Nephrol*, 118: 118~121, 1996.
 - 8) Kawasaki, K., Yaoita, E., Yamamoto, T. and Kihara, I.: Depletion of CD 8 positive cells in nephrotoxic serum nephritis of WKY rats. *Kidney Int*. 41: 1517~1526, 1992.
 - 9) Kawasaki, K., Yaoita, E., Yamamoto, T., Tamatani, T., Miyasaka, M. and Kihara, I.: Antibodies against intercellular adhesion molecule-1 and lymphocyte function associated antigen-1 prevent glomerular injury in rat experimental crescentic glomerulonephritis. *J. Immunol*. 150: 1074~1083, 1993.
 - 10) Tang, W.W., Feng, L., Vannice, J.L. and Wilson, C.B.: Interleukin 1 receptor antagonist ameliorates experimental anti-glomerular basement membrane antibody-associated glomerulonephritis. *J. Clin. Invest*. 93: 272~279, 1994.
 - 11) Wada, T., Tomosugi, N., Naito, T., Yokoyama, H., Kobayashi, K., Harada, A., Mukaida, N. and Matsushima, K.: Prevention of proteinuria by the administration of anti-interleukin 8 antibody in experimental acute immune complex-induced glomerulonephritis. *J. Exp. Med.* 180: 1135~40, 1994.
 - 12) Isaka, Y., Fujiwara, Y., Ueda, N., Kaneda, Y. and Imai, E.: Glomerulosclerosis induced by in vivo transfection of transforming growth factor-beta or platelet-derived growth factor gene into the rat kidney. *J. Clin. Invest*. 92: 2597~2601, 1993.

司会 どうもありがとうございました。どなたか御質問ございますか。どうぞ。

坂爪 インターフェロニンが ICAM-1 の誘導をするのではないかということですが、そのインターフェロニンの出所は糸球体の内皮細胞と考えればよろしいのですか。

山本 それは問題です。たとえば、CD 8 陽性細胞を deplete した方ではインターフェロニンが検出できなくなりました。たとえば CD 8 陽性細胞、それに続く Mφ が産生していることは十分あると思います。あまり分からないのですが、CD 8 陽性細胞を deplete してでないということは抗基底膜抗体が糸球体に結合してから起こる、たとえば補体の反応とか凝固反応とか、そういうことで内皮細胞が刺激されて ICAM-1 の発現が亢進するのではないらしい。ただ、内皮細胞が出てくるかもしれないという可能性は、CD 8 陽性細胞が内皮細胞を刺激すれば出てくるかもしれません。僕らのところでインターフェロニン産生細胞を検出できるほどの、in situ ですとか免疫組織化学という手法がないものから、はっきりとは分かりません。

坂爪 あと、MCP 1 もそうなるかと最初にどこからか出てくるのかというのが疑問です。いかがでしょうか。

山本 MCP 1 を染める抗体を何回もトライしたのですが、なかなかサイトカインを免疫組織化学的に染めるというのはできません。ですので、それも良く分かりません。

司会 他にございませんか。どうぞ。

内藤 一般的なことでいいのですが、こういう炎症のときに、サイトカインを抑える、あるいは発現細胞を抑えるといったカスケードを切ってやる方法を全部治療に結び付くと考えていいのでしょうか。私もそんな風に考えていたのですが、光山先生といっしょにやらせていただいた、生きた菌の場合まったく違っていると思いました。生体防御系をブロックすると菌がどんどん増殖して動物が死んでしまうと言う結果になるわけです。腎炎でもそういうところを抑えた。が、ゆえに病変としては長引くとか悪いことがおきるということはないのでしょうか。

山本 私はそういう危険性が十分あるのではないかと考えているのですが、いろいろ発表されているデータを見る限り、ほとんどが有効であったことを示すものです。しかし、先生のいわれているようにサイトカインは炎症に必要なために出てきていますので、全部抑えては生体防御には良くない可能性も高いと考えられます。

ですから、抑制の仕方も考えなくては行けないし、本当にどこまで関与しているのかははっきりさせていかないと、なかなかそういう研究も進まないのではないかと

おります。

司会 ではどうもありがとうございました。それでは最後に斎藤先生お願いします。

6) 腎細胞癌に対するサイトカイン治療

新潟大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 高橋公太教授)

斎藤 俊弘・片桐 明善・冨田 善彦

Cytokine Therapy of Renal Cell Cancer

Toshihiro SAITO, Akiyoshi KATAGIRI and Yoshihiko TOMITA

*Department of Urology,
Niigata University School of Medicine
(Director; Prof. Kota TAKAHASHI)*

Metastatic renal cell cancer (RCC) is usually treated with immunotherapy using cytokines because it is a mostly chemoresistant malignancy. These therapies are generally based on interleukin-2 (IL-2) or interferon. However, their response rates were less than 20% and various side effects appeared. In order to improve response rate or reduce side effects, we have tried LAK (lymphokine-activated killer cells) therapy and low dose interferon γ therapy. LAK cells are peripheral blood lymphocytes activated in vitro by exposure to IL-2. LAK therapy was done 10 course for 9 patients in our hospital and the overall response rate was 60%. On the other hand, low dose interferon γ therapy was done for 10 patients and the side effects were relatively small with the response rate of 10%. These results indicate that immunotherapy using cytokines are useful for metastatic renal cancer and its strategy, including dosage, combination therapy, is still to be investigated.

Key words: renal cell cancer, cytokine therapy, interferon, interleukin-2
腎細胞癌, サイトカイン治療, インターフェロン, インターロイキン2

緒 言

腎細胞癌は外科的切除を除いては十分に有効といえる

治療がない。有転移症例にはなんらかの全身療法が必要となるが、抗癌剤による化学療法は有効率が低いため、現在腎癌に対する全身療法は比較的奏効率が高い in-

Reprint requests to: Toshihiro Saito,
Department of Urology,
Niigata University School of Medicine
Niigata City, 951-8510 JAPAN

別刷請求先: 〒951-8510 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部泌尿器科学教室 斎藤 俊弘