

原 著

ベーチェット病における好中球のインターロイキン-8
産生能と FK506による産生抑制¹⁾東京女子医科大学 眼科学教室 (主任:小暮美津子教授)²⁾同 解剖学・発生生物学教室ヤギ イクコ コグレ ミツコ ニシカワ メグミ アイカワ エイゾウ
八木 郁子¹⁾・小暮美津子¹⁾・西川 恵²⁾・相川 英三²⁾

(受付 平成9年8月14日)

**Interleukin-8 Production of Neutrophils and Inhibitory Effects of
FK506 in Behçet's Disease****Ikuko YAGI¹⁾, Mitsuko KOGURE¹⁾, Megumi NISHIKAWA²⁾ and Eizo AIKAWA²⁾**¹⁾Department of Ophthalmology (Director: Prof. Mitsuko KOGURE)²⁾Department of Anatomy and Developmental Biology,
Tokyo Women's Medical College

While the etiology of Behçet's disease is still unknown, it is believed that functional abnormalities of neutrophils, such as increases in the migration and production of active oxygen, are intimately involved in the pathogenesis of the disease. This study was undertaken to examine the interleukin-8 (IL-8) production of peripheral neutrophils, focusing on the fact that the IL-8 activates neutrophil migration and enhances their function, and to examine the inhibitory effects of FK506 (an immunosuppressive agent) on neutrophil production of IL-8. Peripheral neutrophil specimens were collected from patients with Behçet's disease and healthy persons, and divided into a group stimulated by lipopolysaccharide (LPS) (LPS-stimulated group) and a group not stimulated by it (non-stimulated group). IL-8 secretion was measured in the both groups to assess the expression of IL-8 mRNA. In addition, FK506 was added to the LPS-stimulated culture to measure IL-8 secretion by neutrophils. The results showed increased neutrophil production of IL-8 in the Behçet's disease group and expression of IL-8 mRNA even in the non-stimulated group. The IL-8 production was shown to be inhibited by FK506. These findings suggest that Behçet's disease is associated with in vivo priming of peripheral neutrophils, implying that IL-8 produced by neutrophils plays a role in the pathogenesis of Behçet's disease. In addition, FK506 may have an inhibitory effect on neutrophil IL-8 production as a mechanism in Behçet's disease.

緒 言

Behçet 病 (B 病) は口腔内の再発性アフタ性潰瘍, 結節性紅斑様皮疹などの皮膚症状, 網膜ぶどう膜炎などの眼症状および外陰部潰瘍を主症状とし, 他にも関節炎, 消化器症状, 血管病変, 中枢神経症状などを有する難治性全身疾患である。その特徴は, これらの急性炎症が再燃, 寛解を繰り返しながら, 慢性遷延性に経過することである。

その病因は未だ不明であるが, 本症の病変局所には好中球の強い浸潤を主体とした病像が認められる。好中球には遊走能¹⁾, 活性酸素産生能²⁾, ライソゾーム酵素分泌能³⁾, 細胞障害能⁴⁾, サイトカイン産生能⁵⁾の亢進など多彩な機能異常が認められ, これら好中球の機能異常が本症の病態形成に

深く関わっていると考えられている。

一方、B病のサイトカインの異常については、これまでに末梢血中のインターロイキン(IL)-1、腫瘍壊死因子(TNF)- α の上昇⁶⁾、リンパ球のIL-6やTNF- α 、IL-8の過剰産生⁷⁾などが報告されている。本報告では、これらのサイトカインの中から、好中球に働き、走化性活性や機能亢進を引き起こすIL-8に着目し、末梢血好中球を分離してIL-8の産生能を検討した。これはリンパ球のみならず、炎症局所に遊走してきた多数の好中球からもIL-8が産生されていれば、好中球の炎症局所への浸潤はさらに増強する可能性が高いと考えたからである。

また、眼症状を有するB病の治療に免疫抑制剤シクロスポリンが有効であることは既に知られている。これと作用が類似した免疫抑制剤FK506には、末梢血リンパ球のサイトカイン産生⁸⁾や顆粒球の遊走能、脱顆粒⁹⁾を抑制する作用のあることが報告されている。また近年、乾癬患者にFK506の有効性が論じられ、その機序としてFK506の投与によってケラチノサイトのIL-8 mRNAが検出されなくなり、血中のIL-8も低下することが報告されている¹⁰⁾。そこでB病患者好中球のIL-8産生に対するFK506の影響も併せて検討し、本症治療におけるFK506の作用機序の一端を明らかにすることを目的とした。

対象および方法

1. 対象

対象は東京女子医科大学病院眼科にて経過観察中の、免疫抑制剤による治療を行っていないB病患者18症例とした。その内訳は男性14例・女性4例、年齢は30~62歳(平均50.0 \pm 9.0歳)、完全型12例・不全型6例であり、全例とも眼病変の既往を有し、活動期11例・非活動期7例、眼罹病期間は0.5~28年(平均13.3 \pm 7.7年)であった。診断は厚生省特定疾患パーチェット病調査研究班が1987年に改訂した診断基準に従い、活動性の分類は研究班の基準案に従った。

健常対照は、患者群と性、年齢分布のほぼ等しい健常成人10例を用いた。なお採血に際しては十分なインフォームド・コンセントを得て行った。

2. 方法

1) 好中球分離

末梢静脈血20mlをヘパリン採血し、好中球をフィコール二重比重遠心法により直ちに分離した。顆粒球分画を採取してリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で3回洗浄後、好中球の精製をflow-cytometryで確認し、細胞数 1×10^6 /mlに調整して10% fetal calf serum (FCS, Biocell Laboratories Inc, Rancho Dominguez, CA)/90% Roswell Park Memorial Institute 1640培養液(RPMI1640, Gibco BRL, Grand Island, NY)/Kanamycin 60mg/lに浮遊した。好中球分離は4°Cで遠心分離した。

2) 細胞培養

10%FCS-RPMI 1640に、浮遊した好中球を、37°C 5%CO₂-incubatorで培養し、0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24時間後に上清を採取し、-40°Cで保存した。Lipopolysaccharide(LPS, from *Escherichia coli*, Sigma Chemical Co, St. Louis, MO) 1 μ g/mlを添加した群も作製し、同様の条件で好中球を培養した。細胞のviabilityはトリパンブルー染色で確認した。

3) IL-8分泌量に対するFK506の影響

上記の細胞培養法にて、LPS添加群の培養開始時にFK506(Fujisawa Pharmaceutical Co, Osaka, Japan)をそれぞれ1, 10, 100ng/ml添加し、培養4時間後の上清を-40°Cで保存した。

4) 好中球のIL-8分泌量の測定

好中球培養上清中のIL-8蛋白量は、抗IL-8抗体を用いてresonant mirror detection法に基づく生体分子間相互作用解析装置IASysTM(Affinity Sensors, Cambridge, UK)を用いて測定した。Amino Silane表面マイクロキュベットに2mM/ml Bis(sulfosuccinimidyl)-suberate(Pierce, Rockford, IL)を200 μ l注入し表面を活性化し、10mM PBSで希釈したマウス抗ヒトIL-8モノクローナル抗体(Sigma)を注入し、固相化した。一次抗体を10mM PBSで3回洗浄し、2mg/ml bovine serum albumin(Sigma)加PBS Na₂S₂O₃(+)を加え、ブロッキング反応を5分間2回行った後、2mM HClで未固定なりガンドを洗浄し、

キュベットの固相化を終了した。上清中の IL-8 蛋白量の測定は好中球培養上清100 μ l を注入し、結合させ、相互作用が平衡化したら10mM PBS 10 μ l を注入し、解離を行った。キュベット内の洗浄は2mM HCl で1分間以上行い、10mM PBS で3回洗浄し、次の検体の測定を行った。

IASys™での測定結果は IASys™に付属の解析ソフト FAST fit™で解析し、extent 値を用いて IL-8量に換算し、検量線は、10mM PBS で希釈したヒト recombinant IL-8 (Sigma) を用いて作製した。

5) 好中球における IL-8 mRNA の発現

IL-8 mRNA の発現は、reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) で IL-8 mRNA を増幅後、これを membrane にトランスファーし、cDNA と hybridization することにより検索した。mRNA は、培養後の好中球から RNA isolation Kit (Stratagene, La Jolla, CA) を用いて total RNA を抽出し、Oligo(dT) (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) によりポリ(A)⁺RNA を精製した。RT-PCR は、精製した mRNA より Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (GIBCO) によって cDNA を合成後、オリゴヌクレオチドプライマー；5' GACTTCCAAGCTGGCCGTG3' (104-122), 5' TTATGAATTCTCAGCCCTCTTC3' (381-401) で IL-8鎖の exon 1から exon 4部分を増幅した¹¹⁾¹²⁾。増幅条件は、denaturation 94°C 1分、annealing 55°C 1.5分、extension 72°C 2.5分

で、45サイクル行った。PCR 産物は1.5%アガロースゲル電気泳動後、ナイロンフィルターHybond-N (Amersham Life Science, Buckinghamshire, England) にトランスファーした。プローブは Human IL-8 Oligonucleotide Probe ; 5' TCCACTCTCAATCACTCTCAGTTCTTTGAT3' (174-145, Clontech Laboratories, Inc, Palo Alto, CA) を、T4 Polynucleotide Kinase (Toyobo Co, Osaka Japan) を用いて³²P-ATP 標識し、カラムで精製してから使用した。Rapid-hyb buffer (Amersham) を用いてフィルターを標識プローブと55°Cで hybridization を一晩行った。0.05%SDS+2 \times SSC, 55°Cでフィルターを洗浄し、X線フィルムに感光させた。

6) 統計学的処理

測定結果は平均値 \pm 標準偏差で表記した。統計学的有意差検定には、IL-8分泌量の経時変化は二元配置分散分析法、2群間の比較は一元配置分散分析法、FK506の影響は Dunnet 法を用いた。p<0.05 (両側検定) をもって有意とした。

結 果

1. 好中球分離

末梢静脈血から分離した好中球の平均純度は96.3%であった。

2. 好中球の IL-8分泌量 (表, 図1)

B病患者好中球の IL-8分泌量は、培養30分において LPS 刺激群は1,621.3 \pm 728.8pg/ml, 無刺激群は1,180.0 \pm 763.4pg/ml であり、刺激の有無による分泌量の差はみられなかった (p=0.1137)。

表 2群間の IL-8分泌量の比較

比較対象	比較項目	培 養 時 間						経時変化	
		30 分	1時間	2時間	4時間	8時間	12時間		24時間
B 病	刺激の有無	NS	0.0259	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
		0.1137							
健常対照		NS	NS	NS	NS	0.0041	NS	0.0426	NS
		0.5895	0.1893	0.3164	0.1220		0.0645		0.0851
刺激群	健常とB病	<0.0001	0.0002	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
		0.0002	0.0037	NS	NS	0.0026	0.0229	0.0038	NS
無刺激群				0.0917	0.0703				0.3159

図1で示した IL-8分泌量を、各培養時間ごとに一元配置分散分析法を用いて検討した結果の p 値を示す。経時変化は培養時間の経過による IL-8分泌量の変化を二元配置分散分析法を用いて検討した結果の p 値を示す。B病: Behçet 病, NS: not significant.

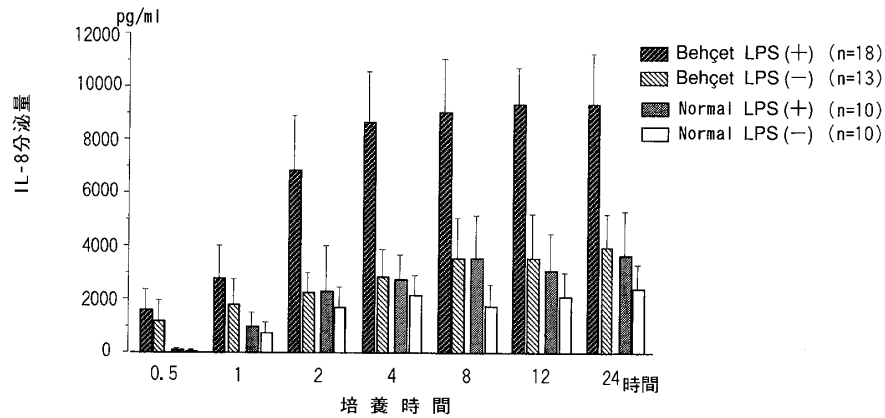


図1 好中球培養上清中のIL-8分泌量
0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24時間培養後の、上清中のIL-8分泌量を示す。バーは標準偏差を示す。n：検体数。

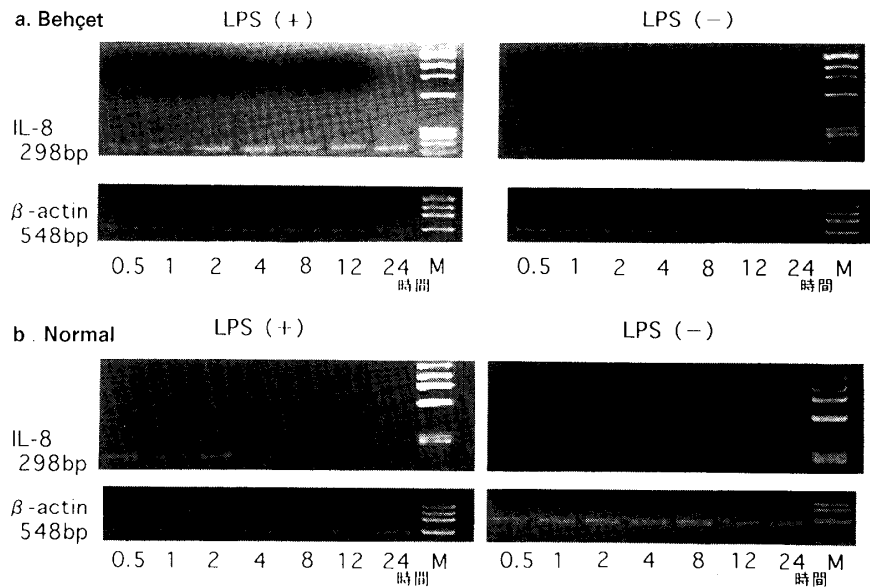


図2 IL-8mRNAの発現
RT-PCRでの298bpのIL-8バンドと、548bpのβ-actinバンドを示す。a：Behçet病，b：健常対照，M：marker。

培養2時間ではLPS刺激群は6,864.7±2,040.6 pg/ml, 無刺激群は2,260.4±733.3pg/mlとなり、培養2時間以降はLPS刺激群のIL-8分泌量は無刺激群に比べ有意 (p<0.0001) に高値を示した。

健常対照のIL-8分泌量は、培養30分においてLPS刺激群79.4±49.5pg/ml, 無刺激群68.9±34.5pg/mlで、刺激の有無による分泌量の差はみられず(p=0.5895), 培養時間の経過とともにIL-8分泌量は増加し、LPS刺激群は無刺激群より高い傾向にあったが、有意 (p=0.0851) な差はみられなかった。

LPS刺激群と無刺激群のそれぞれにおいて健常対照とB病を比べると、B病患者では培養30分において、健常対照に比べ有意(LPS刺激群：p<0.0001, 無刺激群：p=0.0002) に高値を示した。その後も経時的に増加しており、LPS刺激群において培養8時間のB病患者IL-8分泌量は9,045.7±2,001.6pg/mlで健常対照の3,571.9±1,567.7pg/mlに比べ3倍近い分泌量に達していた (p<0.0001)。無刺激群でも、B病患者の方が健常対照に比べ高値を示したが、経時的には有意 (p=0.3159) な差はみられなかった。

3. IL-8 mRNA の発現

RT-PCRにて298 base pair (bp) の IL-8バンドは、B病患者の LPS 刺激群では培養30分から24時間まですべて検出され、LPS 無刺激群では培養

30分から8時間まで検出された(図 2a)。健常対照では LPS 刺激群は培養30分から4時間まで検出されたが LPS 無刺激群では全く検出されなかった(図 2b)。

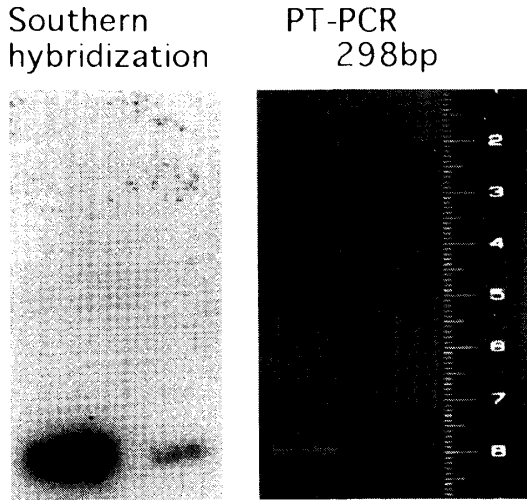


図 3 IL-8mRNA のサザンブロットハイブリダイゼーションと RT-PCR

サザンブロットハイブリダイゼーションで、RT-PCRでの298bpのIL-8バンドがIL-8 mRNAであることを確認した(図 3)。

4. LPS 刺激好中球の IL-8分泌に対する FK506の影響

B病患者の IL-8分泌量は各濃度とも有意 ($p < 0.0001$)に減少し、濃度依存性に減少していた(図 4a)。健常対照の IL-8分泌量は FK506の1ng/ml 添加群では無添加群に比べ有意 ($p = 0.5215$)の減少はみられなかったが、10, 100ng/ml 添加群では有意 (10ng/ml 添加群： $p = 0.0097$, 100ng/ml 添加群： $p = 0.0055$)に減少した(図 4b)。

RT-PCRにて298bpのIL-8バンドは、B病患者ではFK506のすべての濃度で検出されたが、健常

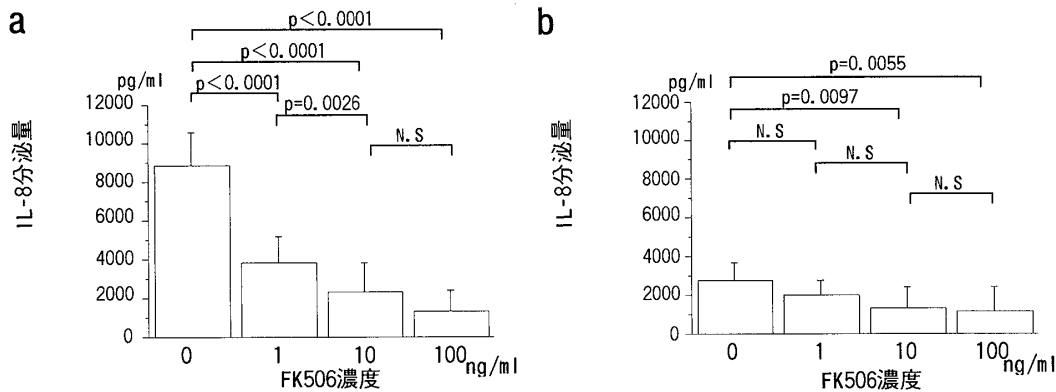


図 4 FK506を添加した LPS 刺激好中球の IL-8分泌量
FK506の無添加群, 1, 10, 100ng/ml 添加群の IL-8分泌量を示す。a: Behçet 病, b: 健常対照, N.S: not significant.

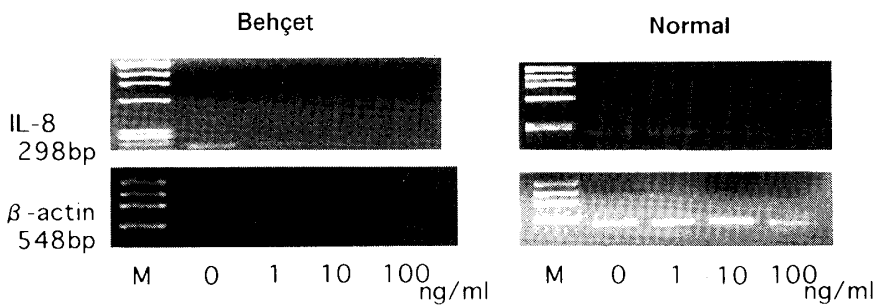


図 5 FK506を添加した LPS 刺激好中球の IL-8mRNA の発現
RT-PCRでの298bpのIL-8バンドと、548bpの β -actinバンドを示す。M: marker.

対照では100ng/ml添加群では検出されなかった(図5)。

考 察

B病眼症状の特徴である前房蓄膿性虹彩毛様体炎の前房内浮遊細胞や結節性紅斑の病変局所には、好中球を主体とした強い炎症細胞の浸潤がみられ¹³⁾¹⁴⁾、B病では好中球の機能亢進が病態形成の基本をなしていると考えられている。

一方、IL-8は好中球、Tリンパ球、好塩基球に働き、走化性活性化作用を示し、とりわけ好中球に対しては、他の炎症刺激物と協調してリゾチーム酵素の放出、ロイコトリエンB₄、15-hydroxyeicosatetraenoic acid、活性酸素の産生を誘導するサイトカインである。またIL-8はCR-1、Mac-1などの接着分子発現を亢進し、好中球の血管内皮細胞・内皮下マトリックスへの接着を増強するなど多彩な活性を示すことが知られている。慢性関節リウマチ、痛風性関節炎、乾癬などのヒト炎症性疾患においてIL-8が産生されていることが患者由来体液中のIL-8レベルの測定でわかっている¹⁵⁾。これらの疾患では好中球の炎症組織への浸潤が認められ、炎症局所で産生されたIL-8が好中球の組織浸潤に関わり、組織障害をもたらすものと推定されている。B病ではIL-8の血中レベルは高くはない⁶⁾が、リンパ球はIL-8を過剰に産生する⁷⁾と報告されている。したがってB病では、病変局所において何らかの刺激により活性化されたリンパ球からIL-8が過剰に産生され、それにより好中球が病変局所に遊走集積してくると考えられる。

IL-8染色体遺伝子はヒトでは4つのexonと3つのintronからなり、第4q12-21に存在している。この遺伝子は5'-上流域のNF- κ B結合部位(-80~-71bp)、C/EBP(NF-IL-6)結合領域(-94~-81bp)、AP-1結合部位(-126~-120bp)の相互作用により活性化される。これらの領域のうちNF- κ B結合部位は必須であるが、細胞のタイプにより、NF-IL-6結合領域かAP-1結合部位が協調的に働くことが必要である。

好中球の活性化に関わる物質は多いが、本実験では生理的な膜受容体を介する好中球刺激物質で

あるLPSを用いて好中球を刺激し、好中球からのIL-8産生能を検討した。今回の研究で、B病では好中球からもIL-8が産生され、LPS刺激により健常者の約3倍のIL-8を産生することが明らかになった。また、IL-8 mRNAは、B病患者のLPS刺激群では培養30分から24時間まですべて検出され、無刺激群においても培養30分から8時間まで検出された。通常、健常者ではin vitroにおいて種々の細胞を刺激物質で処理するとIL-8 mRNAは1時間以内に発現し、2~3時間以内に最大となり、以降漸減し、無刺激ではほとんど発現しないと報告されている¹¹⁾。本実験で、B病患者好中球は無刺激の状態においてもIL-8 mRNAが出現し、培養早期からIL-8が検出されたことは、B病の好中球はin vivoで何らかの刺激を受けて修飾され、既にIL-8遺伝子の転写が活性化されていたことを示す所見と考えられる。

IL-8産生を抑制する物質としてはIL-4、IL-10、transforming growth factor- β 、interferon(IFN)といったサイトカインや、グルココルチコイド、ビタミンD₃、エリスロマイシン、シクロスポリンA、FK506などが知られている。このうちグルココルチコイド¹⁶⁾、IFN¹⁷⁾、FK506¹⁸⁾はIL-8遺伝子の転写を抑制することによってIL-8産生を阻害することが示されている。

FK506が、B病を含む難治性ぶどう膜炎に有効であることは既に報告¹⁹⁾されているが、その作用機序は十分に明らかにされていない。FK506はT細胞からのIL-2、IL-3、IL-4、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、TNF- α などのサイトカイン産生を抑制する作用がある⁸⁾。これらのT細胞を介した種々のサイトカイン産生の抑制は、FK506がB病に有効な一因とされている。

今回の研究は、FK506が顆粒球の遊走能、脱顆粒に対しても抑制効果を示し⁹⁾、ケラチノサイトのIL-8 mRNAの発現を抑制する¹⁰⁾との報告があることから、好中球のIL-8産生をも抑制するのではないかと考え、行ったものである。好中球培養時にFK506を添加したところ、FK506は好中球のIL-8産生を抑制することが示された。また、IL-8 mRNAの発現はB病患者では完全な抑制は得ら

れなかったが、健常者では100ng/mlの濃度で抑制されていた。FK506はIL-8遺伝子のAP-1結合部位とNF- κ B結合部位に至るカルシウム依存性シグナル伝達経路を阻害することにより、IL-8産生を抑制することが知られており¹⁸⁾、本実験においてFK506は、LPS刺激により活性化されたNF- κ BがNF- κ B結合部位に至るカルシウム依存性シグナル伝達経路を阻害することにより、IL-8産生を抑制したものと考えた。そのためカルシウム非依存性シグナル伝達経路の阻害をしないので完全な抑制が得られなかったと考えた。

B病を含む難治性ぶどう膜炎に対するFK506治療では、FK506の血中濃度が20ng/ml以上の状態が長く続くと腎障害、高血糖などの副作用を生じやすいため、血中濃度は20ng/ml以下がよい¹⁹⁾とされている。本実験はFK506の濃度を1~100ng/mlで行ったが、この濃度ではB病患者の好中球のIL-8mRNAの発現は完全には抑えられないが、IL-8産生は抑制されていることがわかった。

今回の研究から、FK506の免疫抑制作用としてT細胞のみでなく好中球のIL-8産生をも抑制することが明らかとなり、B病に対するFK506の有効性の機序の一つとして、新たに好中球から産生されるIL-8を介する炎症反応の抑制を明らかにすることができた。

結 論

B病の好中球のIL-8産生能は亢進しており、無刺激でもIL-8 mRNAの発現がみられた。以上より、B病末梢血好中球は、in vivoでプライミングされている可能性が示唆され、好中球から産生されたIL-8が病態形成の一端を担っていると考えられた。

また、好中球のIL-8産生はFK506により抑制された。このことより、B病におけるFK506の作用機序の一つとして、好中球のIL-8産生の抑制が示唆された。

本研究をまとめるにあたり、研究にご協力いただきました眼科学教室、解剖学・発生生物学教室の諸先生に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Efthimiou J, Addison IE, Johnson BV: In vivo leucocyte migration in Behçet's syndrome. *Ann Rheum Dis* 48: 206-210, 1989
- 2) Niwa Y, Miyake S, Sakane T et al: Auto-oxidative damage in Behçet's disease—endothelial cell damage following the elevated oxygen radicals generated by stimulated neutrophils. *Clin Exp Immunol* 49: 247-255, 1982
- 3) 難波克彦: ベーチェット病の眼発作型と白血球ライソゾーム酵素. *日眼会誌* 85: 1463-1467, 1981
- 4) Ohara M, Shindo M, Miyata M et al: Natural and antibody-dependent cellular cytotoxicity of polymorphonuclear leukocytes. *Tohoku J Exp Med* 140: 59-66, 1983
- 5) 西川 恵, 古川浩司, 兼岡秀俊ほか: ベーチェット病における好中球の自己産生サイトカイン. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班 平成4年度研究業績: 122-124, 1992
- 6) 吉崎和幸, 西本憲弘, 嶋 良仁ほか: ベーチェット病病態におけるTNF- α , IL-6の意義. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班 平成7年度研究業績: 121-122, 1995
- 7) 木谷 敦, 原まさ子, 川越光博: ベーチェット病患者好中球の活性化に関わる各種サイトカインの検討. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班 平成2年度研究業績: 91-92, 1990
- 8) Kino T, Hatanaka H, Miyata S et al: FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a streptomycetes. II. Immunosuppressive effect of FK-506 in vitro. *J Antibiotics* 11: 1256-1265, 1987
- 9) Hendey B, Klee CB, Maxfield FR: Inhibition of neutrophil chemokinesis on vitronectin by inhibitors of calcineurin. *Science* 258: 296-299, 1992
- 10) Lemster BH, Carroll PB, Rilo HR et al: IL-8/IL-8 receptor expression in psoriasis and the response to systemic tacrolimus (FK506) therapy. *Clin Exp Immunol* 99: 148-154, 1995
- 11) Matsushima K, Morishita K, Yoshimura T et al: Molecular cloning of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF) and the induction of MDNCF mRNA by interleukin 1 and tumor necrosis factor. *J Exp Med* 167: 1883-1893, 1988
- 12) Mukaida N, Shiroo M, Matsushima K: Genomic structure of the human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8. *J Immunol* 143: 1366-1371, 1989
- 13) 嶋田孝吉, 矢尾板英夫, 鹿野信一: Behçet病患者房水中の白血球遊走活性. *日眼会誌* 75: 2100-

- 2105, 1971
- 14) 山本昇吉, 森田栄伸: Behçet 病の皮膚病変. 医のあゆみ 164 : 17-21, 1993
 - 15) **Matsushima K, Baldwin ET, Mukaida N**: Interleukin-8 and MCAF: Novel leukocyte recruitment and activating cytokines. Chem Immunol 51 : 236-265, 1992
 - 16) **Mukaida N, Morita M, Ishikawa Y et al**: Novel mechanism of glucocorticoid-mediated gene repression. Nuclear factor- κ B is target for glucocorticoid-mediated interleukin 8 gene repression. J Biol Chem 269 : 13289-13295, 1994
 - 17) **Oliveira IC, Mukaida N, Matsushima K et al**: Transcriptional inhibition of the interleukin-8 gene by interferon is mediated by the NF- κ B site. Mol Cell Biol 14 : 5300-5308, 1994
 - 18) **Okamoto S, Mukaida N, Yasumoto K et al**: The interleukin-8 AP-1 and κ B-like sites are genetic end targets of FK506-sensitive pathway accompanied by calcium mobilization. J Biol Chem 269 : 8582-8589, 1994
 - 19) **Japanese FK507 Study Group on Refractory Uveitis: Mochizuki M, Masuda K, Sakane T et al**: A multicenter clinical open trial of FK506 in refractory uveitis, including Behçet's disease. Transplant Proc 23 : 3343-3346, 1991
-