Information Up-to-Date サイトカインの分子生物学 9

Interleukin-1, IL-1

高橋 将文* 池田 宇一*

I. 発見の経緯

インターロイキンとは、種々の細胞から分泌される生理活性をもつ高分子ペプチドであり、その名称は白血球相互の“通信シグナル”を意味している。この名称は1979年にスイスで開催された第2回リンホカインワークショップにおいて定められたものであるが、その後、白血球以外の細胞にも作用することが明らかにされ、現在ではインターロイキンは広く細胞相互のシグナルのメディエーターとして働くサイトカインの一種として位置づけられている。

インターロイキン-1 (interleukin-1: IL-1) は、最初に記載されたサイトカインの一つであるが、その名称が使用される以前より、さまざまな分野でさまざまな名称の下に研究されてきた。たとえば、急性炎症に伴い血清中に増加する endogenous pyrogen, リンパ球を活性化する lymphocyte activating factor (LAF), hemopoietin-1, osteoclast activating factor などがあげられる。1985~85年にかけてマウスおよびヒト IL-1 のクローニングが行われ、リコンビナントの IL-1 が使用されることによって、これらの物質の作用が IL-1 の作用であることが確認された。これにより IL-1 をめぐり一つの物質がいくつかの名称をもちながら研究されるといった混沌とした状況は、一応幕を閉じた¹⁻⁵⁾。

II. 遺伝子と分子構造

IL-1 にはアミノ酸配列の異なる IL-1 α と IL-1 β とがあり、両者は等電点が異なり、IL-1 α は酸性 (PI=5.2), IL-1 β は中性 (PI=6.9) の等電点をもつ。また近年、IL-1 受容体に特異的に結合するが、IL-1 の作用を示さない IL-1 レセプターアンタゴニスト (IL-1 receptor antagonist: IL-1ra) がクローニングされ、これら IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra の3つを IL-1 ファミリーと呼んでいる。ヒトの IL-1 α と IL-1 β のアミノ酸配列の相同性は22%, IL-1 α と IL-1ra は18%,

IL-1 β と IL-1ra は26%であり、IL-1 β は IL-1 α よりも IL-1ra により近いアミノ酸配列をもっている。ヒト IL-1 α と IL-1 β の遺伝子は第2染色体長腕上に43 kb にわたって存在しており、7つのエクソンと6つのイントロンより構成されている。ヒト IL-1 の三次元構造は基本的に barrel 状 (筒状) で、12~14 の β -strand よりなっている。この β -barrel 構造は、IL-1 様の作用をもつ線維芽細胞増殖因子 (FGF) のそれに近いことが指摘されている。

III. IL-1 の産生と機能

1) IL-1 の産生機序 (Fig. 1)

エンドトキシンなどにより IL-1 産生刺激が細胞に入ると、2.2 kb の IL-1 α mRNA と 1.6 kb の IL-1 β mRNA の転写がおこる。これらの mRNA の発現は一般に15分以内におこり4時間をピークに減少するが、IL-1 自身による刺激では mRNA レベルの上昇が24時間以上持続する。IL-1 α および β の mRNA は翻訳され、それぞれ3.1 kD の前駆型 IL-1 α (proIL-1 α) と前駆型 IL-1 β (proIL-1 β) が合成される。さらに、これら前駆型 IL-1 α および β はプロテアーゼにより17 kD の成熟型 IL-1 α および β に分解される。これら前駆型 IL-1 α , β , 成熟型 IL-1 α , β のうち生物学的活性をもっているのは前駆型 IL-1 α と成熟型 IL-1 α , β の3種であり、前駆型 IL-1 β は活性をもっていない。前駆型 IL-1 α は細胞表面に運ばれて膜型 IL-1 α としても機能する。前駆型 IL-1 β の場合は膜型は存在せず、IL-1 β converting enzyme (ICE) と呼ばれるプロテアーゼによってアスパラギン酸とアラニン (アミノ酸116と117) の間で切断され成熟型 IL-1 β となる。近年、アポトーシスに関連する線虫 *C. elegans* の *ced-3* 遺伝子が ICE と相同性をもつことが報告され、ICE とアポトーシスとの関係が注目されている^{6,7)}。実際、ICE を transfect した細胞ではアポトーシスが誘導され、一方、ICE を阻害するウイルス遺伝子である *crm-A* 遺伝子を transfect した細胞ではアポトーシスが予防されることが報告されている。IL-1ra は刺激により前駆型 IL-1ra として合成され、ゴルジ装置内に運ばれて成熟型 IL-1ra に分解されて細胞外に分泌され、作用する。

* 自治医科大学循環器内科

原稿受取日: 1996年1月20日

Masafumi Takahashi and Uichi Ikeda: Department of Cardiology, Jichi Medical School, Tochigi, Japan.

Fig. 1 IL-1 の産生機序 (文献 2) より引用). 刺激により 3 種類の前駆型 IL-1 (前駆型 IL-1 α ; pIL-1 α , 前駆型 IL-1 β ; pIL-1 β , 前駆型 IL-1ra, pIL-1ra) が合成される. pIL-1 α の多くは細胞質内に留まるが, 一部は膜に移送され膜型 IL-1 α となったり細胞外へ分泌され細胞外プロテアーゼの作用により成熟型 IL-1 α となる. pIL-1 β は細胞内で IL-1 converting enzyme (ICE) の作用により成熟型 IL-1 β となり, 細胞外へ分泌される. pIL-1ra はゴルジ装置内で分解され, 成熟型 IL-1ra となり, 細胞外へ分泌される.

IV. IL-1 受容体とシグナル伝達

一般にサイトカイン受容体は, 上皮増殖因子 (EGF) や血小板由来増殖因子 (PDGF) の受容体とは異なり, その細胞内ドメインにチロシンキナーゼ領域をもたない非チロシンキナーゼ型受容体である. IL-1 受容体も 1 回膜貫通型の非チロシンキナーゼ型受容体であり, その細胞外領域には 3 つの免疫グロブリン様ドメインをもっている. IL-1 受容体には type I と type II の 2 種類があり, type I, type II 受容体ともに多くの細胞に存在するが, type II 受容体は特に好中球, 単球, B リンパ球に多く存在している. type II 受容体の細胞内ドメインは type I 受容体に比較してきわめて短いことより, IL-1 のシグナルは type I 受容体を介して伝達され, type II 受容体は IL-1 と結合するがそのシグナルを伝達しない decoy receptor の役割を果たしているものと考えられている. さらに, コロニー刺激因子 (CSF) やステロイド, IL-1, プロスタグランジン E2 (PGE₂), IL-4 により type II 受容体数が増加することや, 正常人の循環血液中に可溶性の type II 受容体細胞外ドメインが存在していることも報告されており, type II 受容体が天然の antagonist として作用している可能性も推測されている. type I 受容体

Table 1 によりリン酸化されるプロテインキナーゼ.

protein kinase C (PKC)
MAP kinase (ERK1, 2)
JNK/SAPK
p 38
ceramide-activated kinase
hsp 27-casein kinase

と type II 受容体のアミノ酸配列の相同性は 26~28% であるが, IL-1 α , β , IL-1ra のすべてが type I および type II 受容体に結合しうる. しかしながら, その親和性には多少の違いがあり, IL-1 α は type I 受容体に高い親和性を示し, 一方, IL-1 β は type II 受容体に高い親和性を示す. また, IL-1ra は type II 受容体に比べ type I 受容体に高い親和性を示す.

IL-1 の受容体以降のシグナル伝達については, いまだはっきりとわかっていないが, IL-1 によっていくつかの細胞内蛋白のリン酸化が引き起こされることが知られている⁴⁾ (Table 1). protein kinase C (PKC) は, カルシウムとリン脂質により活性化されるセリン/スレオニンキナーゼであり, また, 発癌プロモーターである PMA などのホルボールエステルによっても直接的に活性化され, 細胞内シグナル伝達のシステムのなかで重要な位置を占めている蛋白キナーゼである. IL-1 は T リンパ球や Jurkat 細胞などいくつかの細胞において PKC を活性化する. また, PKC 阻害剤が IL-1 刺激による接着分子 ELAM-1 や腫瘍壊死因子 (TNF) の遺伝子発現を抑制することが報告されており, IL-1 が PKC の活性化を介してなんらかの作用をおよぼすものと考えられる. しかし一方で, PMA の長時間処理により PKC を depletion した状態でも, IL-1 による転写因子 NF- κ B の活性化は影響をうけないことが報告されている. このことは, IL-1 による NF- κ B の活性化には PKC (厳密に言えば PMA 感受性の PKC) を必要としないことを意味するが, PKC には PMA 感受性や Ca 依存性により分類されるいくつかの isotype があり, 今後のより詳細な検討が必要であろう.

MAP キナーゼは, 種々の増殖因子や PMA などにより活性化されるセリン/スレオニンキナーゼであるが, 近年, 新たな MAP キナーゼファミリーとして JNK/SAPK (c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase) と p38 がクローニングされた. IL-1 や TNF といった炎症性サイトカインは JNK/SAPK および p38 を強くリン酸化し⁸⁾, また, IL-1 による熱ショック蛋白 p27 (hsp27) のリン酸化は p38 を介していることが知られている. これらの細胞内シグナルキナーゼが, 実際に生体内でどのような役割を果たしているかは明らかではないが, ごく最近, この

MAP キナーゼファミリーが細胞のアポトーシスに関与している可能性が示されている⁹⁾。それによると、PC12 細胞において nerve growth factor (NGF) 刺激により活性化される ERK1 および ERK2 キナーゼ (いわゆる p42 と p44 の古典的 MAP キナーゼ) は細胞の増殖や分化を制御しているが、NGF の中断により JNK/SAPK と p38 が活性化され、これらはアポトーシスを誘導するというものである。しかしながら、IL-1 によるこれらキナーゼの活性化の意義については不明な点が多く、今後の研究が期待される。

V. 測定法原理

IL-1 α および IL-1 β の定量的測定法としては radioimmunoassay (RIA) 法や enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法があり、いくつかのメーカーより IL-1 測定キットとして販売されている。

VI. 臨床的意義

元来、IL-1 は炎症性メディエーターとして位置づけられてきたが、IL-1 自身多彩な生物学的作用をもっていることと、IL-1 は種々の細胞に対しいろいろなサイトカインの産生を誘導することから、IL-1 の関与する疾患は単に炎症疾患のみならず、動脈硬化、癌、造血管疾患などと多岐にわたる。

動脈硬化の形成機序を細胞レベルで考えると、まず流血中の単球や T リンパ球が内皮細胞へ接着、浸潤して種々のサイトカインや増殖因子を産生、分泌し、その作用により中膜にある平滑筋細胞の内膜への遊走と増殖が引き起こされ、血管内膜の肥厚が生じるという仮説 (response to injury hypothesis) が提唱されている。すなわち、動脈硬化は、単球やリンパ球といった血球細胞と血管内皮細胞、平滑筋細胞といった血管壁を構成する細胞との細胞間相互作用を介して発症、進展してくるといえる。サイトカインはこの動脈硬化の形成過程において細胞と細胞との作用を仲介する

メディエーターの働きをしており、なかでも IL-1 はその中心的な役割を果たしている。

Table 2 に示すように、IL-1 は血管内皮細胞に対して多彩な作用を示す^{10,11)}。IL-1 は内皮細胞上の接着分子 E-セレクチン、ICAM-1, VCAM-1 の発現を亢進させ、白血球と血管内皮との接着を促進する。同時に IL-1 は、内皮細胞や平滑筋細胞に作用して単球の遊走活性化因子である monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) や macrophage colony-stimulating factor (M-CSF), granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) などを産生させ、単球の血管内皮下への集簇を誘導する。さらに IL-1 は、IL-1 自身の産生を誘導したり、単球や平滑筋細胞における MCP-1 などのサイトカインの産生を刺激することから、オートクライン、パラクラインの機序で動脈硬化の形成に関与しているものと考えられる。また、IL-1 は血栓凝固系にも作用する。IL-1 は内皮細胞において、組織因子 (TF)、プラスミノーゲンアクチベーター・インヒビター (PAI)、血小板活性化因子 (PAF) などの産生を亢進し、また、組織プラスミノーゲンアクチベーター (tPA) やトロンボモデュリン (TM) の産生を減少させることにより血栓凝固系を亢進させる。また一方では、IL-1 は内皮細胞や平滑筋細胞におけるプロスタサイクリン (PGI₂) や内皮由来弛緩因子 (EDRF) の産生を亢進し、抗血栓性にも作用する¹²⁾。平滑筋細胞の増殖に対して、IL-1 は促進的に作用するが、この IL-1 の作用は抗 PDGF 抗体の存在下では認められないことより、平滑筋細胞における内因性 PDGF の産生を介した作用であると考えられている¹³⁾。

実際の動脈硬化巣での IL-1 の発現については、Wang ら¹⁴⁾ はヒト動脈硬化巣において PCR 法により、一方、Moyer ら¹⁵⁾ は高コレステロール食で飼育したサル動脈硬化巣において免疫組織染色と *in situ* hybridization 法により明らかにしている。それによると、泡沫細胞化したマクロファージが IL-1 α および β の mRNA を強く発現しており、血管内皮に接着している白血球や平滑筋細胞も IL-

Table 2 内皮細胞における IL-1 の作用。

内皮細胞における作用	生体内での意義
PGI ₂ , EDRF の産生	血管拡張, 血小板凝集抑制
TF, PAI, PAF の産生	血栓の形成
tPA, TM 産生減少	
接着分子の発現 (ICAM-1, 2, VCAM-1, ELAM-1)	白血球の接着, 浸潤, ウイルス感染
遊走因子 (IL-8, MCP-1) の産生	白血球の集簇
コロニー刺激因子 (CSFs) の産生	造血反応
IL-1, IL-6 の産生	造血反応, 急性期炎症反応
PDGF の産生	平滑筋細胞の増殖
腫瘍細胞の接着	平滑筋細胞の増殖 腫瘍の転移

IL-1 α mRNAを発現している。また、微小血管内皮細胞もIL-1 α および β のmRNAを発現しており、IL-1蛋白はこれらIL-1 mRNAが発現している細胞に認められる。しかしながら、動脈硬化巣でIL-1の発現を認めなかったとする報告もあり¹⁶⁾、今後のさらなる検討が必要であろう。

現在、IL-1を投与したり、IL-1raによりIL-1の作用を阻害することによって、IL-1の関与する疾患を治療する試みがなされている。たとえば、骨髄移植時の造血機能の回復を目的としたCSFとIL-1の併用や、慢性関節リウマチや敗血症性ショックにおけるIL-1ra投与の臨床試験などである。しかしながら、動脈硬化においては、その発症、進展が非常に長期にわたって生じることや、その形成機序においてIL-1以外のTNFやPDGFなどのサイトカインや脂質なども重要な働きをしており、現在のところ、IL-1のみの作用を制御して動脈硬化の予防や治療をコントロールすることは難しいものと思われる。

VII おわりに

IL-1のクローニングから10年以上経過したが、現在でもIL-1は数あるサイトカインのなかで中心的な位置を占めており、その重要性は変わっていない。動脈硬化巣においては、IL-1は単球、内皮細胞、平滑筋細胞に作用し、また他のサイトカインや増殖因子の発現、産生を誘導し、病変の形成に関与しているものと推測される。しかしながら、動脈硬化巣におけるIL-1の作用は、その多様性ゆえに必ずしも明確には整理はされていない。さらに早近、IL-1に関して、IL-1raやICE、可溶性IL-1受容体などの重要な発見が相次ぎ、IL-1を中心とした制御機構はますます複雑になってきている。今後これらの体系化を進み、IL-1が動脈硬化の形成過程のどの部分に作用し、また、動脈硬化の進展を抑制するにはどうすればよいか、明らかにされることが期待される。

文 献

1) 笠原新平：インターロイキンレビュー。臨床免疫，27：

- 8-17, 1995
- 2) Dinarello CA: The interleukin-1 family: 10 years of discovery. FASEB J, 8: 1314-1325, 1994
- 3) Dinarello CA: Interleukin-1 and its biologically related cytokines. Adv Immunol, 44: 153-205, 1989
- 4) Nuno K and Matsushima K: The interleukin-1 signaling pathway. J Leukoc Biol, 56: 542-547, 1994
- 5) Platanias LC and Vogelzang NJ: Interleukin-1: biology, pathophysiology, and clinical prospects. Am J Med, 89: 621-628, 1990
- 6) Yuan J, *et al*: The *C. elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 β converting enzyme. Cell, 75: 641-652, 1993
- 7) Miura M, *et al*: Induction of apoptosis in fibroblasts by interleukin-1 β converting enzyme, a mammalian homolog of the *C. elegans* cell death gene *ced-3*. Cell, 75: 653-660, 1993
- 8) Davis RJ: MAPKs: new JNK expands the group. TIBS, 19: 470-473, 1994
- 9) Xia Z, Dickens M, Raingeaud J, Davis RJ, and Greenberg ME: Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. Science, 270: 1326-1330, 1995
- 10) 高橋将文, 池田宇一, 島田和幸: 内皮細胞とサイトカイン。現代医療, 26: 122-125, 1994
- 11) 高橋将文, 池田宇一, 島田和幸: サイトカインと動脈硬化。nanoGIGA, 2: 69-72, 1993
- 12) Ikeda U and Shimada K: Nitric oxide release from rat aortic smooth muscle cells is not attenuated by angiotensin converting enzyme inhibitors. Eur J Pharmacol, 269: 319-323, 1994
- 13) Ikeda U, Ikeda M, Ohara T, Kano S, and Yaginuma T: Mitogenic action of interleukin-1 α on vascular smooth muscle cells mediated by PDGF. Atherosclerosis, 84: 183-188, 1990
- 14) Wang AM, Doyle MV, and Mark DF: Quantitation of mRNA by the polymerase chain reaction. Proc Natl Acad Sci USA, 86: 9717-9721, 1989
- 15) Moyer CF, Sajuthi D, Tulli H, and Williams JK: Synthesis of IL-1 alpha and IL-1 beta by arterial cells in atherosclerosis. Am J Pathol, 138: 951-960, 1991
- 16) Tipping PG and Hancock WW: Production of tumor necrosis factor and interleukin-1 by macrophages from human atheromatous plaques. Am J Pathol, 142: 1721-1728, 1993