エンドトキシンとサイトカイン

松 浦 基 博

自治医科大学・微生物学教室
〒329-04 栃木県河内郡南河内町薬師寺3311-1

〔受理：1994年12月19日〕

エンドトキシンは生体にとって有益な作用から障害的な作用にまで及ぶ、極めて多彩な活性を示す。その活性発現には、生体細胞より産生放出される種々の仲介物質の作用が介在していることが明らかになってきている。その仲介物質として、エンドトキシンの主要な標的細胞であるマクロファージ系細胞から産生放出される、TNF α や IL-1 を始め IL-6, IL-8, IFN α/β , CSF などのサイトカイン類が大きな位置を占めていると考えられ、その役割の解明が進められている。これらサイトカインは各々が複数の活性を発現し、相互に関連し合うため、活性の発現が複雑多岐にわたり、また、活性が過剰に発現された場合には障害的な活性を発現することになると考えられている。サイトカインの産生や作用を抑制することによって、エンドトキシンショックの治療を目指す研究も進められている。また、エンドトキシン刺激によるサイトカイン産生のための細胞レベルでの刺激伝達機構に関する研究も急速に発展している。

1. は じ め に

エンドトキシン（細菌内毒素）の本態は、グラム陰性菌の細胞壁構成成分として不可欠なリポ多糖（LPS）である。LPS は菌体表層に存在するが、その多糖部分が菌体の外側に伸長し、リポド A と呼ばれる脂質部分は脂質二重膜の構成要素として膜構造中に組み込まれているため、この構造は溶菌などによって菌体が破壊されないと完全には暴露されない。リポド A の構造はグルコサミン二糖体骨格にリン酸基とアシル基が結合した比較的単純な構造であるが、古くからエンドトキシン活性と呼ばれていた多彩な活性の大部分がこの構造で発現されることが明らかになっている

(23, 31, 38)。エンドトキシンという名の由来は、菌の培養ろ過液中ではなく、菌体溶解液中に強い活性が認められるため、菌体内に保持されている毒素活性物質と考えられたことにあるが、現在ではエンドトキシンの活性中心であるリポド A の性質を反映したものであることが理解できる。

エンドトキシンによって発現される活性は多岐にわたることが知られているが、何故この様に多彩な活性が発現されるのであろうか。様々なグラム陰性菌由来の LPS の構造を比較してもリポド A 部分の構造は普遍性が高い。そのため生体にとっては感染などに際して接する機会の多い外来構造であり、この様な構造を認識することにより生体は感染に対する防御機構を進化させて来たのではないだろうか。高度に進化した防御機構を有する高等動物では、リポド A の様に普遍性の高い外来構造に免疫細胞が応答し生体防御のための

Motohiro MATSUURA
The Role of Cytokines in Endotoxin Activities
Department of Microbiology, Jichi Medical School,
Tochigi 329-04

様々な反応を引き起こす。その際、免疫細胞間の反応を仲介し調節する物質として、近年様々なサイトカインの存在とそれらの機能が次々と明らかになってきている。エンドトキシンの多彩な活性もエンドトキシン刺激により免疫細胞から産生放出されるサイトカインの作用を介した活性として説明できる部分があることが明らかになりつつある。本稿では、サイトカインの関与が明らかになりつつあるエンドトキシン活性の代表的な例をいくつか取り上げ、これまでの研究成果を紹介したい。

2. エンドトキシン刺激によって 誘導されるサイトカイン

サイトカインは、従来は、免疫担当細胞であるリンパ球やマクロファージが産生するタンパク性の液性因子で、免疫応答や細胞の分化、増殖を調節する物質とされていたが、研究が進むにつれ、産生細胞の種類でも、発現される活性でも、その範囲が拡大されている。サイトカインの一般的な性質として、糖タンパク質であること、極めて微量で作用を発現すること、受容体を持った細胞に作用すること、単一のサイトカインが複数の作用を示すこと、異なるサイトカインが共通の活性発現作用を含むことなどがある。従って、各サイトカインの作用は独立した作用であると同時に互いに関連し合い、サイトカインネットワークを形成している。

エンドトキシンは多彩な活性を発現するが、それらの活性はエンドトキシンが標的細胞に作用して直接発現される活性ではなく、エンドトキシン刺激によって生体内で産生されるメディエーター類の作用を介した活性であることが明らかになってきている。この様なメディエーター類として、血小板活性化因子、プロスタグランジン、ロイコトリエン、トロンボキサン、などのケミカルメディエーター類と共にサイトカイン類が大きな役割を担っている。エンドトキシン作用発現の仲介細胞としてサイトカイン産生の中心的な役割を担っているのは単球・マクロファージ系細胞であるが、好中球、血管内皮細胞、線維芽細胞、血小板、B細胞なども応答細胞として働いていることが知られている。しかし、T細胞に対しては直接的に

作用しサイトカイン産生を誘導する活性は通常認められない。従って、エンドトキシンの作用を仲介するサイトカインとしては単球・マクロファージ系細胞から産生されるモノカイン類が主である。中でも $\text{TNF}\alpha$ (腫瘍壊死因子 α) 及び IL-1 は数多くの活性発現に中心的な役割を演じている (13)。これらのサイトカイン以外にも IL-6, IL-8, IL-10, IFN (インターフェロン), CSF (コロニー刺激因子) などがエンドトキシン刺激によって産生され活性発現に関与していることが知られている (2, 81)。

エンドトキシンはグラム陰性菌感染に際して宿主体内で遊離放出され、宿主細胞がこのエンドトキシンを認識することにより防御活性の亢進のためにサイトカインなどを産生すると考えられる。サイトカインは主として局所的に働き、産生細胞自身や近傍の細胞に作用することにより防御作用を発現するが、局所で大量に産生された場合には血中に放出され遠隔の臓器や組織に作用し、障害を与えてしまうこともある。エンドトキシンが生体にとって有益な (防御的な) 活性を示す一方、生体にとって障害的な活性をも示すのは、生体側がエンドトキシンに過剰に反応しやすく、防御活性を発現するためのメディエーター類産生の正常なバランスが崩れ、障害的な活性の原因となる過剰な反応を引き起こす様なメディエーター類産生の異常へと傾きやすいためであるという考えが一般的に受け入れられている (図1)。

3. 非特異的抵抗性増強作用とサイトカイン

エンドトキシンを動物に投与するとその動物は数時間後から種々の感染に対して抵抗性を示すようになる。この感染抵抗性は投与した LPS と感染菌の間の特異性に関係なく発現される。即ち、大腸菌由来の LPS を投与した場合でも、大腸菌以外のグラム陰性菌の感染に対する抵抗性をも付与できるし、更に、LPS を菌体成分として含まないグラム陽性菌、真菌、寄生虫やウイルスの感染に対してまで抵抗性を与えることができるのである。この作用の発現には B 細胞や T 細胞の関与はあまり認められないことが報告されており (12, 60), マクロファージ系細胞及び産生されるサイトカインの関与が考えられる。非特異的感

図1. エンドトキシンの活性発現カスケード

染抵抗性の獲得には、抗原刺激後、抗体産生までに要する様な長時間は必要なく、LPS 投与後1日以内の短時間で十分であり、時間的な面からもサイトカインの産生を介した作用の関与が予想される。実際、LPS 刺激によってマクロファージ系細胞から産生されるサイトカイン類、TNF α (17, 63), IL-1 (77, 82), IL-8 (83) や CSF (21) を用いて、これらサイトカイン類が種々の細菌や真菌、ウイルス、寄生虫の感染に対して非特異的に感染抵抗性を付与できることが報告されている。

ところが LPS のこの作用は、これらのサイトカイン類を介した作用としてだけでは説明しきれず、それ以上に複雑な機構を含んでいると考えられる。実験動物に LPS を繰り返し投与すると、サイトカイン類の産生に関しては2度目の LPS 投与以後は抑制 (トレランス) を受けるが、感染

抵抗性増強作用は逆に強化されるのである。また、グルココルチコイドを投与しておくとも LPS 投与による TNF α や IL-1 の産生を抑制できるが、感染抵抗性増強作用は抑制されないという報告もある (59)。

感染以外にも腫瘍や放射線障害に対してもエンドトキシンは抵抗性増強作用を付与できるが、抗腫瘍活性においても TNF α を始めとするサイトカイン類の関与は大きいと考えられている。放射線障害に対する防御作用に関する研究では、LPS 投与により内因的に産生された TNF α および IL-1 の関与が大きいことが報告されている (56)。

このような LPS による非特異的抵抗性増強作用は、外来構造を認識した生体細胞による防御機構亢進作用の一部に他ならないと考えられるが、サイトカインに依存した防御網の活性化だけに止まらず、幾重にも張りめぐらされたその他の防御網

の活性化にも依存しているため、サイトカインという側面からだけでは十分説明しきれない面が出てくるのであろうと思われる。

4. エンドトキシンショックとサイトカイン

グラム陰性菌による菌血症や敗血症に際しては、その経過中に悪寒や発熱などを伴って突然ショック状態に陥ることがあり、グラム陰性菌性ショックと呼ばれている。このショックの病態は、エンドトキシンを動物に静注した時に起こるショック（エンドトキシンショック）の病態と極めて相同性が高いことから、感染菌から遊離したエンドトキシンがグラム陰性菌性ショックの原因因子であると考えられている。このショックの誘発は、臨床上問題となる代表的なエンドトキシンの障害作用であるが、この作用の発現にも数々のサイトカインが介在していることが明らかになって来ている。特に、 $\text{TNF}\alpha$ と IL-1 が中心的な役割を果たしているとして注目されている（9, 13）。以下に各サイトカインについて、エンドトキシンショックとの関連を述べる。

(1) $\text{TNF}\alpha$

$\text{TNF}\alpha$ は、BCG 感染マウスに LPS を投与した時、単球・マクロファージ系細胞から血中に放出され、MethA 肉腫に対して出血性壊死作用を示す物質として1975年に Carswell ら（10）により報告された。その後、この物質は腫瘍細胞に対する壊死作用以外にも様々な活性を有するサイトカインであることが分かってきた。エンドトキシンショックとの関係についての最初の報告は1985年に Beutler ら（7）によるものであった。この報告では、抗マウス TNF 抗体を予め投与されたマウスは致死量のエンドトキシンに対しても抵抗性を獲得し生残できることを示した。次いで、リコンビナント $\text{TNF}\alpha$ を投与された動物に、ショックや臓器障害などのエンドトキシンショック類似の症状が惹起されることも示された（74）。また、 $\text{TNF}\alpha$ に対するモノクローナル抗体を用いて、致死量の大腸菌をマウスに投与する敗血症性ショックモデルでも抗 TNF 抗体が防御効果を発現することが示された（75）。これらの結果より、エンドトキシンの作用により内因的に産生される $\text{TNF}\alpha$ がエンドトキシンショックのメディエー

ターとして大きな働きをしていることが明らかにされ、その後もこの関係に基づいた研究成果が数多く報告されている。最近では TNF レセプターを欠損したノックアウトマウスが作成され、このマウスは $\text{TNF}\alpha$ の致死毒性に対しても、実験的エンドトキシンショックの誘発に対しても、耐性を示すことが報告された（61, 64）。ただし、エンドトキシンショックの発症機序の全てを $\text{TNF}\alpha$ 単独の作用として説明できるものではない。 $\text{TNF}\alpha$ による障害作用を増強する因子として、他のサイトカイン類との相互作用（86）、宿主の被感染状態（46）や微量のエンドトキシンの混在（65）その他の多くの因子の関与が報告されている。

エンドトキシンショックの発症には数多くの因子が関与していると考えられるが、その因子の中で中心的なメディエーターである $\text{TNF}\alpha$ の作用あるいは生体内での $\text{TNF}\alpha$ の産生を抑えることによってショックの誘発を防止できる可能性が大きい。この様な考えに基づいて、 $\text{TNF}\alpha$ の制御によるエンドトキシンショックの誘発の防止を目指した研究が進められている（表1）。コルチコステロイドやペントキシフィリン（Pentoxifylline）は $\text{TNF}\alpha$ の産生を抑制する作用を有する薬剤で、エンドトキシンショックの治療への応用が検討されている。また、毒性の高い通常のリピド A に対し、構造が少し変化することによって毒性が大きく低下した低毒性リピド A あるいはリピド A 類縁化合物中に、エンドトキシンの拮抗剤としてショックの防止に利用できる可能性のある物が見出されている。これらの作用としてエンドトキシン刺激による $\text{TNF}\alpha$ の産生を抑制する機構の関与が認められている（47, 81, 90）。 $\text{TNF}\alpha$ は、その産生細胞内では 26 kDa の前駆体タンパク質として合成され、タンパク分解酵素による分解（プロセッシング）を受けて 17 kDa の成熟 $\text{TNF}\alpha$ として細胞外に放出され活性を発現するが、このプロセッシング酵素の阻害剤が最近見出され、これら阻害剤の投与によりマウスでのエンドトキシンショックの誘発が抑えられることが報告された（24, 48, 50）。 $\text{TNF}\alpha$ の活性発現の中和を標的としたものとして、抗 $\text{TNF}\alpha$ 抗体の利用が動物実験の結果から期待され、ヒト型抗

表1. エンドトキシンショックに対する治療への応用が検討されている
主なサイトカイン抑制剤

抑制作用点	抑制剤	抑制を受ける 主なサイトカイン
産生過程	コルチコステロイド	TNF α , IL-1
	ペントキシフィリン (Pentoxifylline)	TNF α
	低毒性リビド A 類縁化合物	TNF α
	抑制性サイトカイン (IL-4, IL-10)	TNF α , IL-1, IL-8
プロセッシング過程	TNF α プロセッシング酵素阻害剤	TNF α
活性発現過程	抗 TNF α 抗体	TNF α
	可溶性 TNF α 受容体 (sTNFR)	TNF α
	抗 IL-1 抗体	IL-1
	IL-1 受容体拮抗物質 (IL-1ra)	IL-1

TNF α モノクローナル抗体を作成し臨床試験が行なわれている。また、可溶性 TNF レセプター (sTNFR) は TNF α 受容体の細胞外ドメインが酵素分解を受け、細胞から遊離したものであるが、TNF α に結合しその活性を中和する。生体内で TNF α が過剰に産生された時その調節物質として機能している可能性があり (5), この sTNFR をエンドトキシンショックの抑制に応用する研究も進められている (79)。

(2) IL-1

IL-1 には α 型と β 型の 2 種類があり、構造的には相違があるが、同一の受容体に結合し作用するため、ほぼ同一の生物活性を示す。IL-1 は多くの点で TNF α と共通性のある生理活性を示し (40), エンドトキシン投与や細菌感染に際して、TNF α の産生に引き続いて多量に産生され血中に放出されるサイトカインである (9)。IL-1 の作用の一つとしてプラスミノゲンアクチベーターインヒビター (PAI)-1 の産生を誘導し、局所凝固能を亢進するという報告がある (54)。また、リコンビナント IL-1 をウサギに全身投与することにより、ショック様症状が惹起されることが報告され (58), IL-1 もエンドトキシンショックの誘発に重要な役割を果たすと考えられている。また、IL-1 が TNF α と相乗的に作用して、マウスに対する致死毒性を高めることも見出された (86)。

興味あることに IL-1 に関連した物質として、IL-1 の活性を阻害する物質もエンドトキシンを投与したヒト血清中 (15) や発熱患者の尿中

(42) に存在することが見出された。この物質が単離されその cDNA も明らかにされ (18), IL-1 と競合して IL-1 受容体に結合するがシグナルは伝えないため IL-1 の活性発現を阻害する物質であることが判明し、IL-1 受容体拮抗物質 (IL-1ra) と呼ばれるようになった。この IL-1ra を利用して IL-1 受容体の機能を抑制することによりエンドトキシンショックや敗血症性ショックの誘発を軽減できることが示され (20, 57, 87), 治療薬としての可能性が注目されている。IL-1ra は IL-1 の産生に引き続いて産生され、IL-1 の過剰な産生に対して抑制をかけるための生体内の調節物質と考えられる。更に興味深いことには抑制性サイトカインである IL-4 や IL-10 は、LPS 刺激によるヒト単球からの IL-1 や TNF α などの産生に対しては抑制をかけるが、IL-1ra の産生は促進する作用を有していることが報告されており (19, 25, 32), サイトカインネットワークの巧妙な調節機構の一端がうかがえる。

TNF α の場合と同様、IL-1 を抑制することによりエンドトキシンショックに対する防御を目指す研究も、IL-1 の産生抑制、プロセッシング酵素の阻害剤、抗体や可溶性受容体による活性の中和及び上述の IL-1ra による受容体拮抗作用などを標的として様々な角度から進められている (表 1)。

(3) IL-6

血中 IL-6 濃度の上昇と敗血症の発症あるいはショックによる死亡との間に相関が認められることより (26, 80, 87) エンドトキシンショック

の誘発への IL-6 の関与が考えられた。他方、ヒト単球を用いた *in vitro* の実験では、エンドトキシン刺激による TNF α や IL-1 の産生に対して IL-6 は抑制効果を示すとの報告 (1, 66) や、リコンビナント IL-6 をイヌに投与してもショックの時に見られる血圧低下や内皮細胞の障害などの病状が認められないとの報告 (62) があり、エンドトキシンショックの誘発に IL-6 が積極的に関与しているのかどうかについて疑問が持たれた。また、IL-6 に対する抗体や IL-6 受容体を用いた研究 (28, 43, 70)、並びに IL-6 遺伝子のノックアウトマウス (IL-6 を産生できない) を用いた研究 (39) から、敗血症やエンドトキシンショックの誘発に対する IL-6 の関与は部分的なものである可能性が示唆された。チンパンジーを実験動物として抗 IL-6 モノクローナル抗体を用いた研究から、IL-6 は軽度のエンドトキシン血症における凝固系の活性化にはメディエーターとして重要な役割を果たしているが、エンドトキシン投与による他のサイトカイン類 (TNF α や IL-1 など) の産生放出に対する増幅効果や好中球増多及び脱顆粒効果の発現には関与していないことが報告された (78)。この様にエンドトキシンショックに対する IL-6 の関与は TNF α や IL-1 の様に全体的なものではなくある範囲に限られた部分的なものであると考えられている。

(4) IFN γ

このサイトカインもエンドトキシンショックの誘発に関与していることが、エンドトキシンを投与されたヒトや動物で IFN γ の産生が認められること (85) や、マウスを用いたエンドトキシンショックのモデル実験系で抗 IFN γ 抗体がショックの抑制効果を示すこと (27, 29) などから示唆された。また、最近では IFN γ レセプターを欠損したノックアウトマウスが作成され、このマウスが敗血症やエンドトキシンによるショックの誘発に抵抗性を示すことが見出されている (11, 34)。

IFN γ はマクロファージ活性化因子としての役割を担ったサイトカインで T 細胞や NK 細胞から産生されることが知られているが、LPS がこれら細胞に直接作用して IFN γ を産生させる作用は認められていない。LPS 刺激による IFN γ の産生

に関しては、*in vitro* の実験では、マウスの脾細胞を LPS 無添加で 1-3 日間培養後 LPS で刺激すると IFN γ が産生されるという報告があり (8)、この機構として、IL-2 刺激を受けた T 細胞に LPS が作用すると IFN γ 産生を誘導できる可能性が示されている。LPS 刺激による IFN γ の産生機構は解明されていないが、上述の様に LPS を動物に投与する *in vivo* の実験では、生体内で IFN γ が産生されその作用を発現するものと考えられる。TNF α や IL-1 などの様に、LPS が単球・マクロファージ系細胞などに作用して直接的にサイトカインの産生を誘導する機構とは異なり、IFN γ 産生の場合には、複数の細胞種やメディエーター類を介した間接的な機構で LPS が IFN γ の産生を誘導しているのではないかと考えられる。

IFN γ はマクロファージ活性化作用を有し、LPS 刺激によるマクロファージからの TNF α の産生を増強する。この TNF α 産生増強作用がエンドトキシンショックの誘発における IFN γ の主な役割と考えられるが、更に、IFN γ は TNF α の作用を介さない機構でも敗血症やエンドトキシンショックの誘発に関与している可能性があることが報告されている (34, 37, 69)。

(5) その他のサイトカイン

IL-8 もエンドトキシン刺激に応じて産生され急性期反応に重要な役割を演じていると報告されている (22)。IL-8 は好中球走化因子として発見され、感染に伴って炎症局所へ好中球を集積させ活性化させる防御因子としての役割を担っていると考えられている。活性化された好中球は感染菌を破壊するために中性プロテアーゼや活性酸素を産生する。ところがエンドトキシン刺激により高サイトカイン血症が引き起こされた場合、過剰に産生された IL-8 が好中球の活性化を過渡に亢進させ、中性プロテアーゼや活性酸素を大量に産生放出させてしまい、周辺臓器の重要なタンパク質にまで作用し変性させてしまうため、エンドトキシンショック時の臓器障害の原因となる可能性が考えられている。

感染や炎症の局所に集積した防御細胞をその場に止めておく作用を有する因子と考えられる MIF (Migration inhibitory factor) もエンドトキシンショックの発症に関与している可能性が報告

されている (6)。

他方、エンドトキシンショックを防止しようとする方向で働くサイトカイン類も同時に産生されている。前述の IL-1ra もその一種と考えられるが、抑制性サイトカインとしての作用が知られている IL-10 も LPS 刺激により産生されショックの誘発に対して抑制的に働いていると思われる。実験動物に IL-10 を投与することにより、エンドトキシンショックからの回避が認められること (25, 32) や、IL-10 に対するモノクローナル抗体を投与することによりエンドトキシンショックに対する動物の感受性が上昇することなどが報告されている (33, 44)。また、IFN α も TNF α 産生を抑制し、エンドトキシンショックを阻止できるという報告もある (76)。

5. 発熱性とサイトカイン

エンドトキシンの強い発熱性はその発見当初より特徴的な活性の一つとして知られていたが、この活性もリポド A 部分によって担われていることが明らかになっている (23, 31, 38)。発熱性の研究には主としてウサギが使われるが、エンドトキシン投与後に採取したウサギの血清を他のウサギに投与すると、そのウサギは発熱を起こすことが明らかになった (3)。この血清中には白血球の培養液中に産生される発熱物質と同じ物質が存在することが示唆され、エンドトキシンの様に体外から投与した物質を外因性発熱物質と呼ぶのに対し、内因性発熱物質 (endogenous pyrogen, EP) と呼ばれるようになった。エンドトキシンの様な外因性発熱物質は、宿主の白血球を活性化し、EP の産生を誘導し、産生された EP が循環血液中に放出されることによって、発熱作用を引き起こすと考えられるようになった。この EP の本態の解明に向けて研究が進められた。その結果、別の観点から研究が進んできた IL-1 が LPS 投与による発熱作用を仲介する EP として最初に同定された (4, 53)。IL-1 以外にも発熱性を示すサイトカインが種々存在することが明らかになり、現在では、EP は外因性発熱物質の刺激により体内で産生される発熱性サイトカインの混合物の総称と理解されている。従って、外因性発熱物質の種類によって EP 中に含まれる発熱性サイトカイン

の種類や組み合わせも異なるが、エンドトキシンを投与した場合には EP として IL-1 以外にも IL-6 (36, 41), TNF α (36, 84), IFN (14, 35, 52) が関与していることが示唆されている。また、これら発熱性サイトカイン類も直接的な発熱刺激物質ではなく、プロスタグランジンが最終的な発熱の刺激伝達物質であることが明らかにされている (49, 51)。ただし、IL-8 はプロスタグランジン非依存的に発熱作用を発現する可能性が最近になって報告された (89)。

発熱反応が更に複雑な事には、この反応には脳が関与していると考えられるが、サイトカイン類は血管・脳関門を通過できないという事がある。LPS や IL-1 β あるいはインドメタシン (プロスタグランジンの合成を抑える解熱剤) などを、静脈内や皮下から投与する他に、脳室内に投与する系を組み合わせる発熱反応に関する研究が進められている。LPS を投与すると、通常、投与後60分付近及び180分付近に2相性のピークを持つ発熱パターンを示すが、LPS の量が不十分な時には最初の60分付近のピークのみを有する1相性の発熱パターンを示すことが知られている。これら各々のピークの発熱機構に関する検討から、第1相目のピークは血液側からだけ接近できる部位でのプロスタグランジンの産生放出に起因しており、第2相目のピークは血液側と脳室側のインターフェイスと考えられる部位での IL- β の産生を介したプロスタグランジンの産生放出が関与していることが示唆されている (55)。

この様にエンドトキシンによる発熱機構に関しても研究の進展が見られるが、発熱そのものの生理学的意義についても研究が進んでいる。エンドトキシンは注射剤などへの混入を避けねばならない代表的な発熱物質であり、発熱作用は生体に対する障害的な作用であると単純に考えられがちであるが、適度な発熱は生体が通常より少し高いレベルに体温を調節している状態で、生体機能を活性化し、非特異的防御反応の亢進とも関連した、生体にとって有益な反応であることが明らかになってきている。もちろん、エンドトキシンは生体の温度調節機能を上回る過度の発熱を誘発し、生体に対する障害的な作用を発現する危険性のある物質であることにはちがいはない。

6. サイトカイン産生のための細胞活性化機構

これまでに述べてきたように LPS 刺激を受けて様々なサイトカイン類を産生放出する主要な細胞はマクロファージ系細胞である。LPS によるマクロファージ活性化機構について最近研究が急速に進んでいる。マクロファージ活性化のためにはまず LPS のマクロファージへの結合が必要であるが、この結合に関与する2種類のタンパク質が見出された。そのタンパク質の一つは、感染後の急性期の血漿中に増加し、LPS と強い結合性を示すタンパク質であり LBP (LPS binding protein) と名付けられた (67, 72)。LBP は単独

ではマクロファージと結合できないが、LPS のリピド A 部分と結合し (73)、LPS-LBP 複合体を形成するとマクロファージに結合できるようになり、LPS によるマクロファージの活性化 (サイトカイン産生) を著しく増強する作用を有することが明らかになった (45)。もう一つのタンパク質は、マクロファージの分化抗原の一種である CD14 で、このタンパク質が LPS-LBP 複合体を結合するマクロファージ側の受容体であることが明らかになった (88)。抗CD14抗体が LPS-LBP 複合体によるマクロファージからの TNF 産生を阻害できることも示された。この様な結果から LPS はまず血液中の LBP と結合し LPS-LBP 複

図2. LPS 刺激によるマクロファージ活性化の想定機構

現在のところ、以下の3つのケースが考えられている。①LPS-LBP 複合体が結合した CD14 から直接細胞質内へ刺激が伝達される、②CD14 に結合した LPS-LBP 複合体から、細胞質内へ刺激を伝達する別の LPS 受容体へ LPS が移転する、③LPS が CD14 とは異なる LPS 受容体へ直接結合し細胞質内へ刺激が伝達される。

合体を形成し、その後、マクロファージ表面の CD14 と結合することによりマクロファージを活性化し、サイトカイン産生を誘導する経路があることが示された。

CD14 はそのペプチドの C 末端に結合した GPI アンカーと呼ばれる糖脂質によってマクロファージの膜に結合しており、細胞質側にはドメインを持たないため、CD14 が直接細胞内にシグナルを伝える可能性は少なく、他の分子の関与が推察される。CD14 はチロシンキナーゼ p53/56^{lyn} と複合体を形成することが報告されており (71)、このチロシンキナーゼが LPS の情報伝達に関与しているのかどうかについて現在関心が高まっているところである。細胞内情報伝達系では刺激を受けたレセプターに連動してタンパク質キナーゼが活性化され、タンパク質のリン酸化を介して核内因子を活性化し、DNA に作用し、mRNA の発現を誘導し、最終的にサイトカインなどの産生に至る経路が考えられている。LPS でマクロファージを刺激した場合、LPS 応答性細胞でだけ認められる細胞内タンパク質リン酸化反応の亢進が見出されており (68)、チロシンキナーゼを含むキナーゼ類の活性化が CD14 以後の情報伝達系に関与している可能性が考えられている。

CD14 を介した系では、1-10 ng/ml の低濃度の LPS の刺激を伝達できるが、高濃度の LPS (100-1000 ng/ml) による刺激伝達では LBP にも CD14 にも依存しない経路があることが示唆されている (30)。発作性夜間ヘモグロビン尿症の患者は CD14 を欠損していることが明らかになっているが、その血液単球は低濃度の LPS には反応せず、高濃度の LPS にしか応答を示さないと報告されている (16)。その他の CD14 を発現していない細胞でも同様の応答性が観察されている。この事は、LPS が高濃度で作用する場合には CD14 以外の受容体に LPS が結合する可能性を示唆するものである。CD14 を介する経路でも、LPS-LBP が CD14 に結合後、LPS は別のシグナル伝達分子に転移される可能性があり、その分子が高濃度 LPS が直接結合する分子と同一の、キナーゼ活性化機能を有する、真の LPS レセプターであるかもしれない。現在、この様な機能を担った LPS レセプターの解明に向けて活発に研究が

進められているところである。これらの結果から、現在考えられている LPS によるマクロファージ活性化機構のモデルを図 2 に示した。LPS 刺激によって同一のマクロファージから様々なサイトカインが産生されるが、個々のサイトカイン産生のための刺激伝達がどの様に相互に関連して伝わって行くのかに関しては未だほとんど分かっていない。

7. お わ り に

この総説では、エンドトキシンの代表的な活性を取りあげ、各活性毎にサイトカインの関与を述べてきた。ところが、同一のサイトカインが複数の活性発現にもまたがって関与しているので、表 2 にエンドトキシン刺激によって産生されるサイトカイン毎に、エンドトキシン活性への関与をまとめてみた。即ち、エンドトキシンの多彩な活性から個々の活性を取り出して見ても、複数のサイトカインがその活性発現に関与しており、また、個々のサイトカインを取り上げて見ても、複数の活性発現に関与しているということである。この様にサイトカインを始めとする多数のメディエーターがお互に複雑に絡まり合ってエンドトキシンの活性発現に関与していることが明らかになっている。サイトカインは生体側の細胞によって産生される内因性産物であることを考えると、その本来の役割は自己を防御するために働く物質であり、積極的に自己に攻撃を加え障害的な作用を発揮する役割を担った物質であるとは考えられない。ところがエンドトキシンショックの際などには、高サイトカイン血症を伴って生体に障害的な作用を及ぼすのである。サイトカイン本来の役割が産生細胞周辺での局所的作用であるという考えからすれば、流血中に検出されるほどの多量のサイトカインの産生放出は異常な事態である。単純に考えると、適量のサイトカインの産生は生体にとって有益な作用を誘導し、過剰な産生は障害的な作用の誘導に結びつくと考えられる。ただし、単に量的な基準だけで判断できるものではなく、標的細胞の種類やサイトカイン相互の量的関係などを総合的に考慮する必要があるようである。

生体はサイトカインネットワークを始めとし、多種のメディエーターを介する複雑で精巧な調節

表2. エンドトキシン刺激によって産生される主要なサイトカインと
それらサイトカインが関与する主なエンドトキシン活性

サイトカイン	有益な活性	障害的な活性
TNF α	抗腫瘍活性 感染抵抗性増強作用 放射線抵抗性	ショックの誘発 発熱性
IL-1	抗腫瘍活性 感染抵抗増強作用 放射線抵抗性	発熱性 ショックの誘発
IL-6	抗体産生促進作用	凝固異常の誘発 発熱性
IL-8	感染抵抗性増強作用 (好中球走化活性)	組織障害
IL-10	炎症性サイトカインの抑制	
IFN α/β	抗ウイルス作用	発熱性
CSF	感染抵抗性増強作用 (細胞増殖促進作用)	

を受けた生体防御網を発達させているが、エンドトキシンが障害的な作用を発現する場合には、この防御網の調節機構になんらかの狂いを生じさせ、異常な反応の暴走に歯止めをかけられなくし、サイトカインの産生バランスなどにも異常を引き起こすものと考えられる。現在、過剰なサイトカインの作用を抑制することでエンドトキシンショックに対する治療を目指す数々の研究が進んでいることを紹介したが、将来、上述の調節機構の攪乱作用に関する研究が進み、それを回避する方法が明らかになれば、より根本的な面からの問題解決ができるし、エンドトキシンの有益な活性だけを効果的に発現させる方法の進展にも結びつくものと考えられる。

文 献

- 1) Aderka, D., Le, J., Vilcek, J. (1989): IL-6 inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor production in cultured human monocytes U937 cells and mice. *J. Immunol.* **143**, 3517-3523.
- 2) Andersson, J., Nagy, S., Bjork, L., Abrams, J., Holms, S., Andersson, U. (1992): Bacterial toxin-induced cytokine production studies at the single-cell level. *Immunol. Rev.* **127**, 69-96.
- 3) Atkins, E., Wood Jr. W.B. (1955): Studies on the pathogenesis of fever. I. The presence of transferable pyrogen in the blood stream following the injection of typhoid vaccine. *J. Exp. Med.* **101**: 519-528.
- 4) Auron, P.E., Webb, A.C., Rosenwasser, L.J., Mucci, S.F., Rich, A., Wolff, S.M., Dinarello, C.A. (1984): Nucleotide sequence of human monocyte interleukin-1 precursor cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 7909-7911.
- 5) Bemelmans, M.H.A., Gouma, D.J., Buurman, W.A. (1993): LPS-induced sTNF-receptor release in vivo in a murine model: Investigation of the role of tumor necrosis factor, IL-1, leukemia inhibiting factor, and IFN- γ . *J. Immunol.* **151**, 5554-5562.
- 6) Bernhagen, J., Calandra, T., Mitchell, R.A., Martin, S.B., Tracey, K.J., Voelter, W., Manogne, K.R., Cerami, A., Bucale, R. (1993): MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. *Nature* **365**, 756-759.
- 7) Beutler, B., Milsark, I.W., Cerami, A.C. (1985): Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science* **229**, 869-871.
- 8) Blanchard, D.K., Djeu, J.Y., Klein, T.W., Friedman, H., Stewart II, W.E. (1986): Interferon- γ induction by lipopolysaccharide: Dependence on interleukin 2 and macrophages. *J. Immunol.* **136**, 963-970.
- 9) Cannon, J.G., Tompkins, R.G., Gelfand, J.A., Michie, H.R., Stanford, G.G., Van der Meer, J.W.M., Endres, S., Lonnemann, G., Corsetti, J., Chernow, B., Wilmore, D.W., Wolff, S.M., Burke, J.F., Dinarello, C.A. (1990): Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic

- shock and experimental endotoxin fever. *J. Infect. Dis.* **161**, 79-84.
- 10) Carswell, E.A., Old, L.J., Kassel, R.L., Green, S., Fiore, N., Williamson, B. (1975): An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**, 3666-3670.
 - 11) Car, B.D., Eng, V.M., Schnyder, B., Ozmen, L., Huang, S., Galley, P., Heumann, S., Aguet, M., Ryffel, B. (1994): Interferon- γ receptor deficient mice are resistant to endotoxin shock. *J. Exp. Med.* **179**, 1437-1444.
 - 12) Chedid, L., Parant, M., Damais, C., Parant, F., Juy, D., Galelli, A. (1976): Failure of endotoxin to increase nonspecific resistance to infection of lipopolysaccharide low-responder mice. *Infect. Immun.* **13**, 722-727.
 - 13) Dinarello, C.A. (1991): The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome. *J. Infect. Dis.* **163**, 1177-184.
 - 14) Dinarello, C.A., Bernheim, H.A., Duff, G.W., Le, H.V., Nagabhushan, T.L., Hamilton, N.C., Coceani, F. (1984): Mechanisms of fever induced by recombinant human interferon. *J. Clin. Invest.* **74**: 906-913.
 - 15) Dinarello, C.A., Rosenwasser, L.J., Wolff, S.M. (1981): Demonstration of a circulating suppressor factor of thymocyte proliferation during endotoxin fever in humans. *J. Immunol.* **127**, 2517-2519.
 - 16) Duchow, J., Marchant, A., Crusiaux, A., Husson, C., Alonso-Vega, C., De Groote, D., Neve, P., Goldman, M. (1993): Impaired phagocyte responses to lipopolysaccharide in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Infect. Immun.* **61**, 4280-4285.
 - 17) Echtenacher, B., Falk, W., Mannel, D.N., Krammer, P.H. (1990): Requirement of endogenous tumor necrosis factor/ cachectin for recovery from experimental peritonitis. *J. Immunol.* **145**, 3762-3766.
 - 18) Eisenberg, S.P., Evans, R.J., Arend, W.P., Verderber, E., Brewer, M.T., Hannum, C.H., Thompson, R.C. (1990): Primary structure and functional expression from complementary DNA of a human interleukin-1 receptor antagonist. *Nature* **343**, 341-346.
 - 19) Fenton, M.J., Buras, J.A., Donnelly, R.P. (1992): IL-4 reciprocally regulates IL-1 and IL-1 receptor antagonist expression in human monocyte. *J. Immunol.* **149**, 1283-1288.
 - 20) Fisher, E., Marano, M.A., Van Zee, K.J., Rocks, C.S., Hawes, A.S., Thompson, W.A., DeForge, L., Kenney, J.S., Remick, D.G., Bloedow, D.C., Thompson, R.C., Lowry, S.F., Moldawer, L.L. (1992): IL-1 receptor blockade improves survival and hemodynamic performance in *E. coli* septic shock, but fails to alter host response to sublethal endotoxemia. *J. Clin. Invest.* **89**, 1551-1557.
 - 21) Freund, M., Kleine, H.-D. (1992): The role of GM-CSF in infection. *Infection* **20** (suppl. 2), S84-S92.
 - 22) Fujishima, S., Hoffman, A.R., Vu, T., Kim, K.J., Zheng, H., Daniel, D., Kim, Y., Wallace, E.F., Larrick, J.W., Raffin, T.A. (1993): Regulation of neutrophil interleukin 8 gene expression and protein secretion by LPS, TNF- α and IL-1 β . *J. Cell. Physiol.* **154**, 478-485.
 - 23) Galanos, C., Luderitz, O., Rietschel, E. T., Westphal, O., Brade, H., Brade, L., Freudenberg, M., Schade, U., Imoto, M., Yoshimura, H., Kusumoto, S., Shiba, T. (1985): Synthetic and natural *Escherichia coli* free lipid A express identical endotoxic activities. *Eur. J. Biochem.* **148**: 1-5.
 - 24) Gearing, A.J.H., Beckett, P., Christodoulou, M., Churchill, M., Clements, J., Danidson, A.H., Drummond, A.H., Galloway, W.A., Gilbert, R., Gordon, J.L., Leber, T.M., Mangan, M., Miller, K., Nayee, P., Owen, K., Patel, S., Thomas, W., Wells, G., Wood, L.M., Woolley, K. (1994): Processing of tumor necrosis factor- α precursor by metalloproteinases. *Nature* **370**, 555-557.
 - 25) Gerard, C., Bruyns, C., Marchant, A., Abramowicz, D., Vandenabeele, P., Delvaux, A., Fiers, W., Goldman, M., Vela, T. (1993): Interleukin 10 reduces the release of tumor necrosis factor and prevents lethality in experimental endotoxemia. *J. Exp. Med.* **177**, 547-550.
 - 26) Hack, C.E., De Groot, E.R., Felt-Bersman, J.F., Nuijens, J.H., Strack Van Schijndel, R.J.M., Eerenberg-Belmer, A.J.M., Thijs, L.G., Aarden, L.A. (1989): Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood* **74**, 1704-1710.
 - 27) Heinzl, F.P. (1990): The role of IFN γ in the pathology of experimental endotoxemia. *J. Immunol.* **145**, 2920-2924.
 - 28) Heremans, H., Dillen, C., Put, W., Van Damme, J., Billiau, A. (1992): Protective effect of anti-interleukin (IL)-6 antibody against endotoxin, associated with paradoxically increased IL-6 levels. *Eur. J. Immunol.*, **22**, 2395-2401.

- 29) Heremans, H., Van Damme, J., Dillen, C., Dijkmans, R., Billiau, A. (1990): Interferon- γ , mediator of lethal lipo-polysaccharide-induced Schwartzman-like shock reactions in mice. *J. Exp. Med.* **171**, 1853-1869.
- 30) Heumann, D.H., Gallay, P., Barras, C., Zaech, P., Ulevitch, R.J., Tobias, P.S., Glauser, M.-P., Baumgartner, J.D. (1992): Control of lipopolysaccharide (LPS) binding and LPS-induced tumor necrosis factor secretion in human peripheral blood monocytes. *J. Immunol.* **148**, 3505-3512.
- 31) Homma, J.Y., Matsuura, M., Kanegasaki, S., Kawakubo, Y., Kojima, Y., Shibukawa, N., Kumazawa, Y., Yamamoto, A., Tanamoto, K., Yasuda, T., Imoto, M., Yoshimura, H., Kusumoto, S., Shiba, T. (1985): Structural requirements of lipid A responsible for the functions: A study with chemically synthesized lipid A and its analogues. *J. Biochem.* **98**: 395-406.
- 32) Howard, M., Muchamuel, T., Andrade, S., Menson, S. (1993): Interleukin 10 protects mice from lethal endotoxemia. *J. Exp. Med.* **177**, 1205-1208.
- 33) Ishida, H., Hastingo, R., Thompson-Snipes, L., Howard, M. (1993): Modified immunological status of anti- IL-10 treated mice. *Cell Immunol.* **148**, 371-384.
- 34) Kamijyo, R., Le, J., Shapiro, D., Havell, E.A., Huang, S., Aguet, M., Basland, M., Vilcek, J. (1993): Mice that lack the interferon- γ receptor have profoundly altered responses to infection with *Bacillus Calmette-Guerin* and subsequent challenge with lipopolysaccharide. *J. Exp. Med.* **178**, 1435-1440.
- 35) Kawasaki, H., Moriyama, M., Tanaka, A. (1987): Augmentation of endotoxin fever by recombinant human beta interferon in rabbits. *Infect. Immun.* **55**: 1121-1125.
- 36) Klir, J.J., Roth, J., Szelenzi, Z., McCellan, J.L., Kluger, M.J. (1993): Role of hypothalamic interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in LPS-fever in rat. *Am. J. Physiol.*, **265**: R512-R517.
- 37) Kohler, J., Heumann, D., Garotta, G., LeRoy, D., Bailat, S., Barras, C., Baumgarten, J.-D., Glauser, M.P. (1993): IFN- γ involvement in the severity of Gram-negative infections in mice. *J. Immunol.* **151**, 916-921.
- 38) Kotani, S., Takada, H., Tsujimoto, M., Ogawa, T., Takahashi, I., Ikeda, T., Otsuka, K., Shimauchi, H., Kasai, N., Mashimo, J., Nagao, S., Tanaka, A., Tanaka, S., Harada, K., Nagai, K., Kitamura, H., Shiba, T., Kusumoto, S., Imoto, M., Yoshimura, H. (1985): Synthetic lipid A with endotoxic and related biological activities comparable to those of a natural lipid A from an *Escherichia coli* Re-mutant. *Infect. Immun.* **49**: 225-237.
- 39) Kopf, M., Baumann, H., Freer, G., Freudenberg, M., Lamers, M., Kishimoto, M., Zinkernagel, R., Bleuthmann, H., Kohler, G. (1994): Impaired immune and acute-phase responses in inter-leukin-6-deficient mice. *Nature* **368**, 963-970.
- 40) Le, J., Vilcek, J. (1987): Tumor necrosis factor and interleukin-1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab. Invest.* **56**, 234-248.
- 41) Lemary, L.G., Vander, A.J., Kluger, M.J. (1990): Role of interleukin-6 in fever in rats. *Am. J. Physiol.* **258**: R798-R803.
- 42) Liao, Z., Grimshaw, R.S., Rosenstreich, D.L. (1984): Identification of a specific interleukin-1 inhibitor in the urine of febrile patients. *J. Exp. Med.* **159**, 125-126.
- 43) Libert, C., Vink, A., Coulie, P., Brouckaert, P., Everaerd, B., Van Snick, J., Fiers, W. (1992): Limited involvement of interleukin-6 in the pathogenesis of lethal septic shock as revealed by the effect of monoclonal antibodies against interleukin-6 or its receptor in various murine models. *Eur. J. Immunol.* **22**, 2625-2630.
- 44) Marchant, A., Bruyns, C., Vandenabeele, P., Ducarme, M., Gerard, C., Delvaux, A., De Groote, D., Abramowicz, D., Velu, T., Goldman, M. (1994): Interleukin-10 controls interferon- γ and tumor necrosis factor production during experimental endotoxemia. *Eur. J. Immunol.* **24**, 1167-1171.
- 45) Mathison, J.C., Tobias, P.S., Wolfson, E., Ulevitch, R.J. (1992): Plasma lipopolysaccharide binding protein. A key component in macrophage recognition of gram-negative LPS. *J. Immunol.* **149**, 200-206.
- 46) Matsuura, M., Galanos, C. (1990): Induction of hypersensitivity to endotoxin and tumor necrosis factor by sub-lethal infection with *Salmonella typhimurium*. *Infect. Immun.* **58**, 935-937.
- 47) Matsuura, M., Kiso, M., Hasegawa, A., Nakano, M. (1994): Multistep regulation mechanisms for tolerance induction to lipopolysaccharide lethality in the tumor-necrosis-factor- α -mediated pathway: Application of non-toxic monosaccharide lipid A analogues for elucidation of mechanisms. *Eur. J. Biochem.* **221**, 335-341.

- 48) McGeehan, G.M., Becherer, J.D., Bast Jr., R.C., Boyer, C.M., Champion, B., Connolly, K.M., Conway, J.G., Furdon, P., Karp, S., Kidao, S., McElroy, A.B., Nichols, J., Pryzwansky, K.M., Schoenen, F., Sekut, L., Truesdale, A., Verghese, M., Warner, J., Ways, J.P. (1994): Regulation of tumor necrosis factor- α processing by a metalloproteinase inhibitor. *Nature* **370**, 558-561.
- 49) Milton, A.S., Wendlandt, S. (1971): Effect of body temperature of prosta-grandins of the A, E and F series on injection into the third ventricle of unanesthetized cats and rabbits. *J. Physiol.* **218**: 325-336.
- 50) Mohler, K.M., Sleath, P.R., Fitzner, J.N., Cerretti, D.P., Alderson, M., Kerwar, S.S., Torrance, D.S., Otten-Evans, C., Greenstreet, T., Weerawarna, K., Kronheim, S.R., Petersen, M., Gerhart, M., Kozlosky, C.J., March, C.J., Black, R.A. (1994): Protection against a lethal dose of endotoxin by an inhibitor of tumor necrosis factor processing. *Nature* **370**, 218-220.
- 51) Morimoto, A., Murakami, N., Nakamori, T., Watanabe, T. (1988): Multiple control of fever production in the central nervous system of rabbits. *J. Physiol.* **397**: 269-280.
- 52) Morimoto, A., Murakami, N., Takada, M., Teshirogi, S., Watanabe, T. (1987): Fever and acute phase response induced in rabbits by human recombinant interferon- γ . *J. Physiol.* **391**: 209-218.
- 53) Murphy, P.A., Simon, P.L., Willoughby, W.F. (1980): Endogenous pyrogen made by rabbit peritoneal exsudate cells are identical with lymphocyte-activating factor made by rabbit alveolar macrophages. *J. Immunol.* **124**: 2498-2501.
- 54) Nachman, R.L., Hajjar, K.A., Silverstein, R.Y., Dinarello, C.A. (1986): Interleukin 1 induces endothermal cell synthesis of plasminogen activator inhibitor. *J. Exp. Med.* **163**, 1595-1600.
- 55) Nakamori, T., Morimoto, A., Yamaguchi, K., Watanabe, T., Murakami, N. (1994): Interleukin-1 β production in the rabbit brain during endotoxin-induced fever. *J. Physiol.* **476**: 177-185.
- 56) Neta, R., Oppenheim, J.J., Shreiber, R.D., Chizzonite, R., Ledney, G.D., MacVittie, T.J. (1991): Role of cytokines (interleukin 1, tumor necrosis factor, and transforming growth factor β) in natural and lipopolysaccharide-enhanced radioresistance. *J. Exp. Med.* **173**, 1177-1182.
- 57) Ohlsson, K., Bjork, P., Bergenfeldt, M., Hageman, R., Thompson, R.C. (1990): Interleukin-1 receptor antagonist reduces mortality from endotoxin shock. *Nature* **346**, 550-552.
- 58) Okusawa, S., Gelfand, J.A., Ikejima, T., Connolly, R.J., Dinarello, C.A. (1988): Interleukin-1 induces shock-like state in rabbits: Synergism with tumor necrosis factor and effect of cyclooxygenase inhibitor. *J. Clin. Invest.* **81**, 1162-1172.
- 59) Parant, M. (1990): Possible mechanisms in endotoxin-induced modulation of non-specific immunity. 395-402, *In* Nowotny, A., Spitzer, J.J., Ziegler, E.J. [ed.], *Cellular and molecular aspects of endotoxin reaction*, Elsevier Science.
- 60) Parant, M., Galelli, A., Parant, F., Chedid, L. (1976): Role of B-lymphocytes in nonspecific resistance to *Klebsiella pneumoniae* infection of endotoxin-treated mice. *J. Infect. Dis.* **134**, 531-539.
- 61) Pfeffer, K., Matsuyama, T., Kunding, T.M., Wakeham, A., Kishihara, K., Shahinian, A., Weigmann, K., Ohashi, P.S., Kronke, M., Mak, T.W. (1993): Mice deficient for the 55Kd tumor necrosis factor receptor are resistant to endotoxin shock, yet succumb to *L. monocytogenes* infection. *Cell* **73**, 457-467.
- 62) Preiser, J.-C., Schmartz, D., Van der Linden, P., Content, J., Vanden Bussche, P., Buurman, W., Sebald, W., Dupont, E., Pinsky, M.R., Vincent, J.-L. (1991): Interleukin-6 administration has no acute hemodynamic or hematologic effect in the dog. *Cytokines* **3**, 1-4.
- 63) Rook, G.A.W., Taverne, J., Playfair, J.H.L. (1991): Evaluation of TNF as antiviral antibacterial and antiparasitic agent. *Biotherapy* **3**, 167-175.
- 64) Rothe, J., Lesslauer, W., Lotscher, H., Lang, Y., Koebel, P., Kontagen, F., Althage, A., Zinkernagel, R., Steinmetz, M., Bluethmann, H. (1993): Mice lacking the tumor necrosis factor receptor 1 are resistant to TNF-mediated toxicity but highly susceptible to infection by *Listeria monocytogenes*. *Nature* **364**, 798-802.
- 65) Rothstein, J., Schreiber, H. (1988): Synergy between tumor necrosis factor and bacterial products causes hemorrhagic necrosis and lethal shock in normal mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 607-611.
- 66) Schindler, R., Mancilla, J., Endres, S., Ghosbani, R., Clark, S.C., Dinarello, C.A. (1990): Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 sup-

- presses IL-1 and TNF. *Blood* **76**, 40–47.
- 67) Schumann, R.R., Leong, S.R., Flaggs, G.W., Gray, P.W., Wright, S.D., Mathison, J.C., Tobias, P.S., Ulevitch, R.J. (1990): Structure and function of lipopoly-saccharide binding protein. *Science* **249**, 1429–1431.
 - 68) Shinomiya, H., Hirata, H., Nakano, M. (1991): Purification and characterization of the 65 kDa protein phosphorylated in murine macrophages by stimulation with bacterial lipopolysaccharide. *J. Immunol.* **146**, 3617–3625.
 - 69) Silva, A.T., Cohe, J. (1992): Role of interferon- γ in experimental Gram-negative sepsis. *J. Infect. Dis.* **166**, 331–335.
 - 70) Starnes Jr., H.F., Pearce, M.K., Tewari, A., Yim, J.H., Zou, J.C., Abrams, J.S. (1990): Anti-IL-6 monoclonal antibodies protect against lethal *Escherichia coli* infection and lethal tumor necrosis factor- α challenge in mice. *J. Immunol.* **145**, 4185–4191.
 - 71) Stefanova, I., Corcoran, M.L., Horak, E.M., Wahl, L.M., Bolen, J.B., Horak, I.D. (1993): Lipopolysaccharide induces activation of CD14-associated protein tyrosine kinase p53/56^{lyn}. *J. Biol. Chem.* **268**, 20725–20728.
 - 72) Tobias, P.S., Soldau, K., Ulevitch, R.J. (1986): Isolation of a lipopoly-saccharide-binding acute phase reactant from rabbit serum. *J. Exp. Med.* **146**, 777–793.
 - 73) Tobias, P.S., Soldau, K., Ulevitch, R.J. (1989): Identification of a lipid A binding site in the acute phase reactant lipopolysaccharide binding protein. *J. Biol. Chem.* **264**, 10867–10871.
 - 74) Tracey, K., Beutler, B., Lowry, S.F., Merryweather, J., Wolpe, S., Milsark, I.W., Hariri, R.J., Fahey, T.J., Zentella, A., Albert, D., Shires, G.T., Cerami, A. (1986): Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* **234**, 470–474.
 - 75) Tracey, K.J., Fong, Y., Hess, D.G., Manogue, K.R., Lee, A.T., Kou, G.C., Lowry, S.F., Cerami, A. (1987): Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteremia. *Nature* **330**, 662–664.
 - 76) Tzung, S.-P., Mahl, T.C., Lance, P., Andersen, V., Cohen, S.A. (1992): Interferon- α prevents endotoxin-induced mortality in mice. *Eur. J. Immunol.* **22**, 3097–3101.
 - 77) Van der Meer, J.W.M., Barza, M., Wolff, S.M., Dinarello, C.A. (1988): Low dose recombinant interleukin-1 protects granulocytopenic mice from gram-negative infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 1620–1623.
 - 78) Van der Poll, T., Levi, M., Hack, C.F., Ten Cate, H., Van Deventer, S.J.H., Eerenberg, A.J.M., De Groot, E.R., Jansen, J., Gallati, H., Buller, H.R., Ten Cate, J.W., Aaranden, L.A. (1994): Elimination of interleukin 6 attenuates coagulation activation in experimental endotoxemia in chimpanzees. *J. Exp. Med.* **179**, 1253–1259.
 - 79) Van Zee, K.E., Kohno, T., Fisher, E., Rock, C.S., Moldawer, L.L., Lowry, S.F. (1992): Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor α in vitro and in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 4845–4849.
 - 80) Vlich, Th.R., Guo, K., Remick, D., Del Castillo, J., Yin, S. (1991): Endotoxin-induced cytokine gene expression in vivo. III. IL-6 mRNA and serum protein expression and the in vivo hematologic effects of IL-6. *J. Immunol.* **146**, 2316–2323.
 - 81) Vogel, S.N., Herincson, B.E. (1990): Role of cytokines as mediators of endotoxin-induced manifestation: A comparison of cytokines induced by doses of LPS and MPL that elicit comparable early endotoxin tolerance. 465–474, In Nowotny, A., Spitzer, J.J., Ziegler, E.J. [ed.], *Cellular and molecular aspects of endotoxin reaction*, Elsevier Science.
 - 82) Vogels, M.T.E., Henmsen, C.C., Huys, H.L.P.G., Eling, W.M.C., Van der Meer, J.W.M. (1994): Roles of tumor necrosis factor alpha, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, platelet-activating factor, and arachidonic acid metabolites in interleukin-1-induced resistance to infection in neutropenic mice. *Infect. Immun.* **62**, 2065–2070.
 - 83) Vogels, M.T.E., Lindley, I.J.D., Curfs, J.H.A.J., Eling, W.M.C., Van der Meer, J.W.M. (1993): Effects of interleukin-8 on nonspecific resistance to infection in neutropenic and normal mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* **37**, 276–280.
 - 84) Waage, A. (1987): Production and clearance of tumor necrosis factor in rats exposed to endotoxin and dexamethason. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **45**: 348–355.
 - 85) Waage, A., Brandtzaeg, P., Halstensen, A., Kierulf, P., Espevik, T. (1989): The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock. Association between in-

- terleukin 6, interleukin 1, and fatal outcome. J. Exp. Med. **169**, 333-338.
- 86) Waage, A., Espevik, T. (1988): Interleukin 1 potentiates the lethal effect of tumor necrosis factor α / cachectin in mice. J. Exp. Med. **167**, 1987-1992.
- 87) Wakabayashi, G., Gelfand, J.A., Burke, J.F., Thompson, R.C., Dinarello, C.A. (1991): A specific receptor antagonist to interleukin-1 prevents *Escherichia coli*-induced shock in rabbits. FASEB J. **5**, 338-343.
- 88) Wright, S.D., Ramos, R.A., Tobias, P.S., Ulevitch, R.J., Mathison, J.C. (1990): CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. Science **249**, 1431-1433.
- 89) Zampronio, A.R., Souza, G.E., Silva, C.A., Cunha, F.Q., Ferreira, S.H. (1994): Interleukin-8 induces fever by a prostagrandin-independent mechanism. Am. J. Physiol. **266**, R1670-1674.
- 90) Zuckerman, S.H., Qureshi, N. (1992): *In vivo* inhibition of lipopoly-saccharide-induced lethality and tumor necrosis factor synthesis by *Rhodo-bacter sphaeroides* diphosphoryl lipid A is dependent on corticosteron induction. Infect. Immun. **60**, 2581-2587.