

サイトカインの生物学的作用の多様性

誌名	農林水産省家畜衛生試験場研究報告
ISSN	03882403
著者	廣田, 好和
巻/号	93号
掲載ページ	p. 1-17
発行年月	1989年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



サイトカインの生物学的作用の多様性

廣田好和¹

(昭和63年12月6日受付)

はじめに

造血系、特に免疫担当細胞は抗原に対して応答する際に種々の活性物質 (biological response modifier; BRM) を産生する。これらの活性物質のうち、免疫グロブリンを除く物質はサイトカインと総称され、免疫応答や炎症反応の発現に重要な役割を担っている。サイトカインのうち、リンパ球から産生される活性物質はリンホカイン、単球やマクロファージから産生される物質はモノカインと総称されていたが、これらの活性物質のうち、物質として特定できたものについては免疫細胞間の作用因子すなわち“白血球相互の通信シグナル”という意味でインターロイキンと呼ばれている。

サイトカインという名称は、あくまでも現象を免疫系の立場からみた場合のものであり、遅延型過敏症、標的細胞障害など種々の細胞性免疫を発現させる作用物質、液性免疫応答の調節機構に関与する作用物質、腫瘍細胞に対して直接増殖抑制作用や障害作用を示す物質、骨髄における造血幹細胞の分化・増殖を促す作用物質など多くの種類のサイトカインが知られている。

近年、遺伝子工学の進歩により、多くのサイトカインをコードする遺伝子がクローニングされ、クローニングされた cDNA を大腸菌や哺乳動物細胞に発現させて産生された所謂 recombinant product を用いて作用の解析が進められている。臨床的に応用することが可能な程に大量に生産することが可能となったサイトカインはそれ程多くないが、数種類のサイトカインは臨床応用に関して多くの期待がもたれている。

本稿においては、主として物理化学的性状および

生物学的活性が明らかにされているヒトやマウスのサイトカインの一部をとりあげ、それらの活性物質について概説し、さらに獣医学領域における対象動物のサイトカインに関する知見を略述する。

I. 主なサイトカイン

インターロイキンは現在1～7番まで明らかにされている(表1)が、補体系、血液凝固系などの因子のように単一のカテゴリーに分類されるようなものではない。これらのインターロイキンあるいはサイトカインは、免疫系や非免疫系の細胞からも産生され、その作用も免疫系に限局されていない。サイトカインはこのように免疫系と非免疫系の相互作用を介してネットワークを形成し、炎症反応、アレルギー反応などの生体反応の調和に関与しているようである(図1)。この調和が破綻すると、免疫不全症や自己免疫疾患が誘導される可能性が示唆されている。

表1 主なサイトカイン

- 1) Interleukin 1 (IL-1)
- 2) Interleukin 2 (IL-2)
- 3) Interleukin 3 (IL-3)
- 4) Interleukin 4 (IL-4)
- 5) Interleukin 5 (IL-5)
- 6) Interleukin 6 (IL-6)
- 7) Interleukin 7 (IL-7)
- 8) Interferon (IFN)
- 9) Lymphotoxin (LT) and tumor necrosis factor (TNF)
- 10) Colony stimulating factor (CSF)

1. インターロイキン 1 (IL-1)

IL-1はマクロファージ系の細胞ばかりでなく、好中球、上皮細胞(角膜上皮細胞、メラニン細胞、ランゲルハンス細胞)、線維芽細胞などの多種多様の細

The heterogeneity of biological activities of cytokines.

¹ Yoshikazu Hirota: 農林水産省家畜衛生試験場 研究第二部, 〒305 茨城県つくば市観音台3-1-1

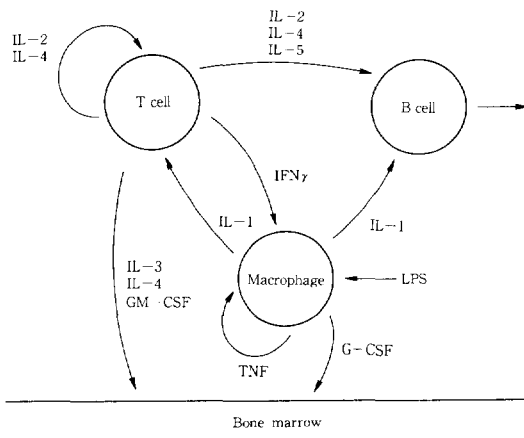


図1 インターロイキンサーキット

胞から産生される分子量12,000-18,000の糖蛋白であり、等電点5.0のIL-1 α と7.0のIL-1 β が存在することが知られている^{29,32,44}。現在のところ、両者の生物学的作用に関しては全く同じである。また、IL-1は白血病の一種である急性単球性白血病や急性骨髄単球性白血病細胞からも産生される¹⁸。

IL-1は増幅因子というよりT細胞の増殖を促すIL-2産生のきっかけをつくる物質(イニシエーター)であることはわかってきたが、遺伝子組換え法によるrecombinant IL-1を未だ十分利用出来る状況になっておらず、依然として大量の材料から出発して精製しなければならないためにインターロイキン2(IL-2)ほどには研究が進んでいない。

IL-1は一般に、休止状態のマクロファージより活性化されたマクロファージで多量に産生される。マクロファージの活性化物質としては種々の物質が知られているが、大別してマクロファージを直接刺激するものと、リンパ球の活性化を介して間接的にマクロファージを活性化するもの、すなわち活性化リンパ球由来のリンホカイン(マクロファージ活性化因子; MAF, マクロファージ遊走阻止因子; MIF, コロニー刺激因子; CSF)などを介して活性化することによりIL-1が産生される。

マクロファージによるIL-2産生の誘導物質として、リポ多糖体(LPS), purified protein derivative (PPD)などのB細胞マイトゲン, phytohemagglutinin (PHA) や concanavalin A (Con A) などのT細胞マイトゲン, ラテックスや抗原抗体複合体などの貪食能誘導物質, bacillus Calmette-Guérin

(BCG), muramyl dipeptide などのアジュバンド物質, セロトニン, phorbol myristate acetate (PMA) などのcyclic GMP誘導物質やdimethyl sulfoxide (DMSO), コルヒチン, マイコスタチンなどが知られている。

IL-1活性の生物学的測定にはT細胞の材料として通常、マウス(C3H/HeJ)の胸腺細胞が使用される³⁶。浮遊細胞にして検体(培養上清)とともに培養し、胸腺細胞の増殖状態を3日培養後、³H-チミジンの取り込み量を測定する胸腺細胞増殖法によりIL-1活性として表示する。

IL-1の生物学的作用は多様で、その最も重要な作用はヘルパーT細胞からのIL-2の産生を誘導し、そのIL-2を介してT細胞の分化・増殖を促進する点である。IL-1はB細胞やNK細胞の分化・増殖にも関与する。IL-1は免疫系の細胞に対してイニシエーターとして作用するばかりでなく、種々の臓器や細胞にも作用する。IL-1は脳に作用して発熱や徐波睡眠を誘導し、ACTHの分泌を促進する。さらに、IL-1は肝細胞に働いて急性期反応性蛋白(CRPやフィブリノーゲンなど)の産生を促し、滑膜細胞を刺激してコラーゲンやプロスタグランジンE₂(PGE₂)の産生および骨カルシウムの遊離を誘導し、かつ線維芽細胞に作用してその増殖を促進する。したがって、IL-1はこれらの多様な作用を介して炎症反応に関与し、さらに創傷の治療療転にも関与しているものと推測されている。

獣医学領域において対象とされる動物のIL-1に関する知見は極めて少ない。後飯塚ら^{12,13,14}は猫コロナウイルスの一種である猫伝染性腹膜炎(FIP)ウイルスに感染・発症した猫においては、腹腔滲出液(腹水)中に高濃度のIL-1が含まれ、そのIL-1は主として腹腔局所に滲出したマクロファージおよび好中球の産物もしくは血行由来のIL-1であると報告している。猫のIL-1もヒトやマウスのIL-1と同様等電点5.2と6.7の両者から構成され、その両者の比率はIL-1産生の誘導条件によって異なることを示唆している。さらに、IL-1の産生異常およびその調節機構の破綻がFIPの病態発現に関連していることを報告している。

免疫系におけるIL-1の作用について要約すると、抗原刺激によりマクロファージはIL-1を産生し、さらに抗原提示細胞(APC)として機能を発揮して抗原の一部と免疫応答(Ir)遺伝子産物であるIa抗原

を伴って一部の T 細胞を刺激する。刺激を受けた T 細胞は、マクロファージ活性化因子 (MAF)、マクロファージ遊走阻止因子 (MIF)、コロニー刺激因子 (CSF) などのリンホカインを分泌してマクロファージに働き、あるいは活性化 T 細胞がマクロファージと接触して IL-1 の産生を促す。IL-1 は IL-1 レセプターを有する T 細胞クローンに働き IL-2 の産生を誘導する。IL-2 は IL-2 レセプターを保有する T 細胞クローンに働き増殖と分化を促すものと考えられる。

2. インターロイキン 2 (IL-2)

IL-2 は活性化 T 細胞から分泌される分子量 15,000~25,000 の糖蛋白であり、T 細胞を選択的に増殖させる作用を有し、免疫応答を調節する重要なリンホカインの一つである。現在、その遺伝子構造およびアミノ酸配列が明らかにされ、遺伝子工学的手法により純粋な形で大量に産生されるようになり、その生化学的・物理学的性状や生物学的作用もかなりよく解明されている。

IL-2 はマクロファージから放出される IL-1 の協力の下にレクチンや抗原で刺激された活性化 T 細胞 (マウスにおいては $Lyt\ 1^+$ 、ヒトにおいては $OKT\ 1^+$) によって産生される^{34,37,55})。また、T 細胞以外に NK 活性を有する large granular lymphocytes (LGL; 大型顆粒リンパ球) や T 細胞リンパ腫 (Jurkat 細胞)、腫瘍性 T 細胞株なども IL-2 を産生することが知られている。この IL-2 の産生には T 細胞とマクロファージ (Ia^+ , Ig^- , $Thy\ 1^-$) との細胞間相互作用が必須であるが、IL-2 産生におけるマクロファージの役割はマクロファージから放出される IL-1 を介して間接的に行なわれているものと考えられている (図 2)。活性化 T 細胞は IL-2 の産生の他に CSF-1 も産生する。これがマクロファージに作用して IL-1 の産生を促進する。一方 CSF によって活性化されたマクロファージは、逆にプロスタグランジン E_2 (PGE_2) などの産生を介して産生を抑制する⁵⁾。したがって、T 細胞による IL-2 産生の調節もマクロファージと T 細胞の細胞間相互作用に依存している。

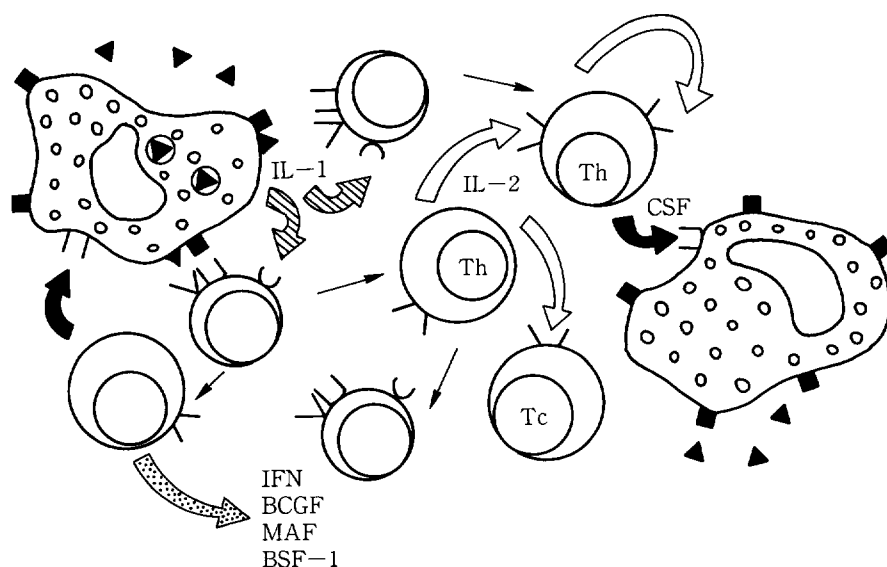


図 2 T 細胞による IL-2 産生とその役割

ヘルパー T 細胞 (Th) は、マクロファージの細胞表面上のクラス II 抗原 (■) と異種抗原 (▲) を認識する。さらに、マクロファージから放出された IL-1 を 2 番目のシグナルとして受け取った T 細胞は活性化し、分裂する。活性化 T 細胞は IL-2 を産生すると同時に異種抗原で活性化された T 細胞、クローンの増殖を誘起する。活性化されたヘルパー T 細胞は IL-2 以外に γ インターフェロン (IFN)、B 細胞増殖因子 (BCGF) や B 細胞刺激因子 (BSF) などのリンホカインを産生する。また、産生された IL-2 はマクロファージの細胞表在のクラス I 抗原と異種抗原を認識した T 細胞に対して 2 番目のシグナルとして作用し、異種抗原特異的細胞障害性 T 細胞 (Tc) を活性化しそのクローンを増殖させる³⁵⁾。

IL-2産生の抑制物質として、PGE₂の他にステロイド、サイクロスポリン A や FK506などが知られているが、これらの薬剤によるリンパ球増殖反応の抑制はリンパ球に対する直接的な作用ではなく、IL-2産生の阻害を介しての間接的な抑制作用であろうと考えられている。逆に IL-2産生の増強物質としては、発癌プロモーターの一種である phorbol acetate (PMA や TPA など) や免疫賦活剤であるサイモンなどの胸腺ホルモンが知られている。

IL-2の活性測定として現在最も広く用いられている方法は、Gillis ら⁹⁾によって確立された IL-2依存性細胞株を用いたマイクロアッセイ法である。これは、マイクロプレートの各ウェルに IL-2依存性マウスクローン化 T 細胞 (CTLL-2) を撒き、これに検体を加え、24時間培養後の ³H-チミジンの取り込み量によって活性を測定する方法である。家畜衛生領域で対象とする動物の IL-2活性を測定する際、この方法が適用しないこともある。例えばイヌや鶏の IL-2は CTLL-2細胞の増殖を誘導しないことから、IL-2依存性 T 株化細胞または PHA や Con A のようなマイトゲン活性化細胞を調製し、検体を加え、それらの細胞の DNA 合成を指標として測定する方法が用いられている。

現在知られている IL-2の主な作用は、

- 1) ヘルパー T 細胞, キラー T 細胞の増殖・分化
- 2) B 細胞の増殖
- 3) NK 細胞活性の増強
- 4) リンホカイン活性化キラー (LAK) 細胞の活性化
- 5) IFN γ 産生の増強
- 6) リンホトキシン (LT) や腫瘍壊死因子 (TNF) の産生の増強

などであり、その作用は多岐にわたっている。

IL-2の作用は、細胞膜表面上に発現している IL-2レセプターを介して細胞を結合することによって初めて発現される。したがって、休止状態 (Go 期) にある T 細胞や B 細胞はその膜表面に IL-2レセプターを発現していないので IL-2に反応して増殖することはできないが抗原やマイトゲンで活性化されると、その表面に IL-2レセプターを発現し、このレセプターを介して IL-2に反応する⁵⁴⁾。しかし、抗原刺激を受けた T 細胞や B 細胞の増殖には、IL-2のみでは不十分で、IL-2の他にトランスフェリンの存在が必要であることから、IL-2の増殖因子としての

働きは、トランスフェリンレセプターの誘導であると考えられている⁴⁰⁾。

IL-2に対するレセプターは、T 細胞, B 細胞, NK 細胞, 単球などの細胞膜上に認められ、その構造は Tac 抗原として知られている分子量 55,000 の鎖 (p55tac) と分子量 75,000 の鎖 (p75) とから成り、両鎖の複合した高親和性の IL-2レセプター (p55/p75ヘテロ 2 量体) が形成されると考えられている^{51,59)}。細胞内へのシグナル伝達に関するのは分子量 75,000 の IL-2結合蛋白であり、Tac 抗原は前者への IL-2結合を補助する役割を担っていることが、p75のみを IL-2レセプターとして発現している LGL 白血病細胞を用いて明らかにされている⁶⁰⁾。すなわち、IL-2添加によるこれらの p75LGL 白血病細胞の著明な増殖反応は抗 Tac 抗体によって阻害されなかったことから、p75が p55Tac の関与なしに単独で IL-2のシグナルを伝達できるものと考えられている。しかしながら、p75に対するモノクローナル抗体やその cDNA はまだ得られておらず、その構造や発現動態ならびに IL-2が IL-2レセプターと結合した後の細胞内情報シグナル伝達機構については解明されていないのが現状である。IL-2および IL-2レセプターの研究は、成人 T 細胞白血病 (ATL) の研究と密接な関連をもって発展してきた。ヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV-I) の感染によって、IL-2および p55Tac の遺伝子が活性化され、これらの異常発現に基づくオートクライン細胞増殖 (自己の産生する増殖因子によってその細胞が増殖する機構) が発症につながるという仮説³³⁾がたてられているが、IL-2のシグナルの伝達に本質的な役割を担うと思われる p75がどのように関与しているのか、腫瘍化との関連で興味深い点である。また、ATL における腫瘍細胞は T 細胞系であるのに対して牛白血病ウイルス (BLV) の感染に起因する地方病性牛白血病における腫瘍細胞は B 細胞由来であると考えられている。BLV の遺伝子構成は、HTLV-I のそれと酷似しており、腫瘍性転化に重要な役割を担っていると考えられている末端反復配列 (LTR) や BLV 遺伝子の発現、特にトランス転写活性化に関与し、HTLV-I の pX に相当すると考えられている XBL-I ならびに XBL-II の存在が明らかにされている²⁴⁾。

これらのことを考慮すると、BLV 感染に伴うリンパ球増多症、特に B 細胞増多症の発現機構ならびに

表2 ヒトおよび各種動物由来の IL-2 の分子量および等電点

Species	Molecular weight	Method*	Isoelectric point
Murine	30,000	gel filtration	4.3-4.9
	23,000	SDS-PAGE	
Rat	15,000	gel filtration	5.4-5.6
Human	15,000	gel filtration	6.0-6.5
Bovine	14,400	SDS-PAGE	5.0-5.9
	16,800		
	20,200	gel filtration	
	20,000		
	20,000		
	20,000		
	23,000		
Ovine	17,000-20,000	gel filtration	
Porcine	15,000	gel filtration	
Canine	30,000	gel filtration	
Feline	16,000	gel filtration	
Rabbit	15,000	gel filtration	
Chicken	19,500-21,500	gel filtration	
	9,000-11,500		
	13,000	PAGE (reduced)	

* SDS-PAGE=sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis; IEF=preparative isoelectric focusing; HPLC=high-performance liquid chromatography.

B細胞腫瘍化とIL-2およびIL-2レセプター関連蛋白の発現ならびにこれらをコードする遺伝子との関連性について検索することは興味深いものと思われる。HTLV-I感染において成熟T細胞でのみ転写が強く発現している遺伝子が報告されているが、これがはたしてIL-2レセプター遺伝子なのかあるいはTac抗原遺伝子なのか、ATLの発症機転を考えると興味深い点である。HTLV-I感染により発現が増強される細胞膜抗原は、単にTac抗原のみならず、ヒト主要組織適合抗原遺伝子(MHC)産物も含まれること³¹⁾が知られており、HTLV-Iのenvelope蛋白p19の遺伝子とHLA-B 亜座の遺伝子の相同性も指摘されている⁷⁾。

獣医学領域においてもIL-2に関する研究は徐々に進展しつつあるが、数種類の動物のリンパ球から産生されたIL-2の物理化学的性状の一部³⁵⁾(表2)が明らかにされている程度でヒトやマウスのそれに比して知見に乏しいのが現状である。それらのうちIL-2の病態との関連に関する最近の知見として、ウイルス感染に起因する免疫抑制もヒトのレトロウイルス(HTLV-IやHTLV-III)感染症と同様、IL-2産生の抑制やIL-2機能の欠損に関連しているとの

報告がある。IBRウイルス(BHV-1)感染牛³⁾やネコ白血病ウイルス(FeLV)感染猫^{10,11)}においては末梢血リンパ球のマイトゲンに対する幼若化反応やIL-2産生能の低下などが認められている。紫外線照射不活化ウイルス(FeLVやマウス白血病;MuLV)は抗原やレクチン刺激リンパ球やIL-2依存性細胞株のIL-2に対する反応性を低下させる^{45,46)}。この低下は外因性IL-2の添加で回復しないが、反応系からウイルスを除去することによって回復する⁶³⁾。このことからウイルス(FeLV)によるリンパ球機能の低下はIL-2レセプターの阻害によるものでなく細胞の代謝系を阻害することによって誘導されると考えられている⁴⁶⁾。

IL-2がキラー系リンパ球の活性を増強することからIL-2の臨床面の応用として、lymphokine-activated killer (LAK) エフェクター細胞による療法が着手されている(NCIのRosenberg^{30,38,52)}らやKarolinska研究所のE.Kleinら⁶¹⁾)が、LAK療法による固型腫瘍の増殖抑制にはIL-2の大量投与を必要とするため血管透過性亢進などに伴う副作用が認められ、それを解決すべく方法が検索されつつある。

3. インターロイキン 3 (IL-3)

IL-3はT細胞から産生される分子量28,000の糖蛋白である^{8,67)}。この物質はTリンパ球をCon AやPHAなどのレクチンで刺激することによってその培養中に産生され、また同種あるいは同系の細胞抗原で刺激することによっても産生する⁶⁸⁾。マウス白血病ウイルスで感染したマウスの脾細胞をウイルス抗原で刺激してもIL-3の産生が誘導される。そのIL-3産生細胞はIL-2と同様ヘルパー/インデューサーT細胞(Thy 1⁺, Lyt 1⁺2⁻)である^{21,22,23)}ことは判明しているが、IL-3がIL-2産生T細胞と同一の細胞群であるか、あるいは異なった細胞群によって産生されるかについては明らかにされていない。

IL-3の活性は、現在IL-3に依存性に増殖する樹立株を用いた増殖刺激活性によって測定されている。一般にDexterが樹立したFDC-P₂株またはIC-2細胞株を用いて検体添加による細胞のDNA合成から測定されている²¹⁾。骨髓単球系株化WEHI-3細胞がIL-2を産生せず、高力価のIL-3を産生することから、この上清を標準の活性として表示している²⁷⁾。最近、WEHI-3細胞から分離したIL-3のmRNAに対するcDNAのクローニングが成功し⁶⁷⁾、大腸菌でIL-3遺伝子から166個のアミノ酸からなるIL-3蛋白分子が作られている。

IL-3の生化学的・生物学的作用は多彩で、そのなかでも造血因子の一つとして注目されており、多分化能造血幹細胞および顆粒球、マクロファージ、好酸球、好塩基球、肥満細胞、巨核球や赤血球の前駆細胞に作用して、これらの細胞の維持、増殖と分化を促す。WEHI-3培養上清には肥満細胞からのヒスタミン遊離刺激活性²²⁾が認められることから、この活性因子もIL-3そのものによるものと考えられている。

IL-3は、造血幹細胞あるいは前駆細胞に働いて各種の液性免疫、細胞性免疫のエフェクターT、B細胞の分化の調節に広く関与するものと考えられており、今後、種々の免疫異常、自己免疫疾患などにおけるIL-3の役割の解明が重要な研究課題の一つである。

4. インターロイキン 4 (IL-4)

IL-4は、抗原刺激を受けたT細胞によって産生されるリンホカインの一つである。ヒトIL-4は、153個

のアミノ酸からなる分子量20,000の蛋白質である^{28,41)}。休止期のB細胞に作用してその細胞膜上のIa抗原の発現を増強させ、抗Ig抗体に対する反応性を高めるB細胞活性化因子としての作用をもつ。また、IL-4はLPSで刺激されたB細胞からIgG₁産生細胞やIgE産生細胞が特異的に誘導するなどB細胞に対して増殖因子(BCGF)および分化因子(BCDF)としての活性を有する。IL-4はB細胞のみならずT細胞や肥満細胞に対しても増殖因子としての作用を示す。IL-4は、これらの作用を介して抗体産生のみならずアレルギー反応にも関与しているものと考えられている。

Yokotaら⁶⁹⁾は、マウスIL-4のcDNAを用いてヒトIL-4とcDNA分子のクローニングに成功し、両者のDNA塩基配列のホモロジーは70%であったと報告している。

最近、IL-4はヒトのCD4⁺T細胞クローン作用してCD8⁺抗原の発現に関与することが明らかにされた⁴⁷⁾。RecombinantヒトIL-4をCD8⁺CD4⁻T細胞クローン株が添加継代培養してもCD8のみ陽性細胞であったが、CD4⁺CD8⁻T細胞クローン株に添加継代培養したところCD4⁺CD8⁺T細胞が出現し、しかもIL-4で誘導されたCD8抗原は本来の機能を発現した。このようにCD4とCD8抗原の両者を発現する細胞が高頻度に出現する病態は、癩や筋無力症患者の末梢血や若年性リウマチの関節液に認められている。したがって、これらの自己免疫疾患における両抗原陽性T細胞の異常出現にIL-4が何らかの役割を担っている可能性が示唆されている。

5. インターロイキン 5 (IL-5)

ヒトIL-5は、ヘルパーT細胞から産生され134個のアミノ酸から分子量12,000の蛋白質である。IL-5は活性化B細胞に作用して、IgG、IgAやIgM抗体産生を誘導する⁵⁸⁾。その他の主な作用として、未熟胸腺細胞に作用して抗原とIL-2の共存下で細胞障害性T細胞を誘導する活性や好酸球の分化を促進する活性を有する^{53,65)}。また、IL-5はアレルギー反応にも関与していると考えられている。

最近、Azumaら²⁾やYokotaら⁶⁹⁾によって、ヒトIL-5の遺伝子クローニングが進められ、cDNAの構造が明らかにされ、マウスIL-5 cDNAとの高い相同性が認められている。

IL-5の活性の測定用の細胞として一般にマウス

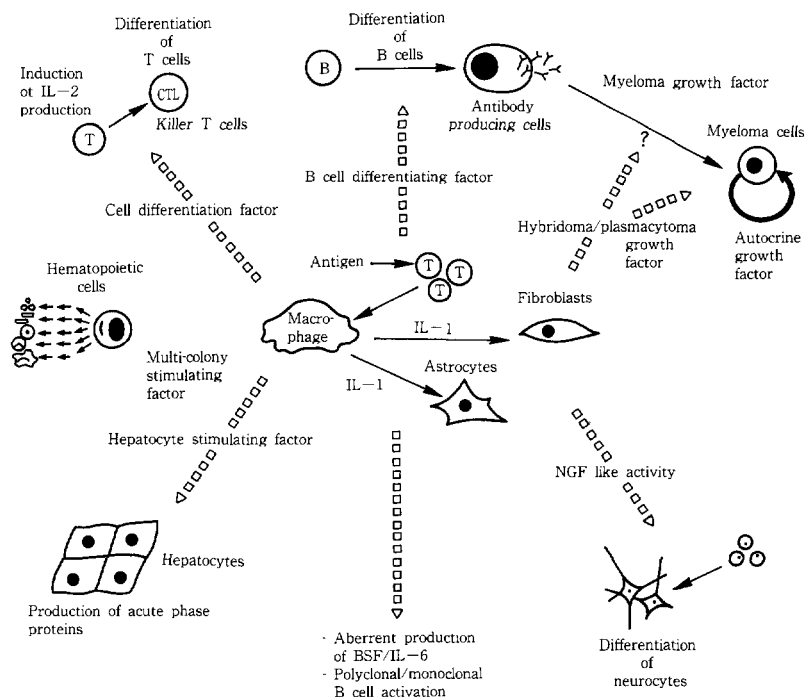


図3 BSF-2/IL-6の生物学的作用の多様性

に BCL 1 株化細胞を接種後、脾細胞浮遊液を調製し、G-10カラムを通してマクロファージを除去し、さらに Thy 1 抗体と補体処理を行い、percoll グラディエント密度勾配遠心後の40%分画から得られる B 細胞が使用される⁵⁷⁾。この B 細胞に検体を添加し、4 日間培養後上清中に産生される Ig 量を ELISA で定量することにより IL-5 の活性が測定されている。

6. インターロイキン 6 (IL-6)

ヒト IL-6 は、26K dalton T 細胞由来蛋白インタフェロン β_2 および B 細胞刺激因子 (BSF-2) と称され、212 個のアミノ酸からなる分子量 21,000 の糖蛋白質であり、T 細胞やマクロファージから産生される。さらに、線維芽細胞、脳のアストロサイトやグリア細胞などにおいても、IL-1 の刺激によって IL-6 が産生されることが判明している^{17,62,69)}。IL-6 の生物学的作用は極めて多様で、現在知られている主な作用は以下のように要約される⁴²⁾ (図 3)。

1) 活性化 B 細胞の抗体産生細胞への最終段階の分化を誘導することから B 細胞分化因子 (BSF-2) としての作用を有する。

- 2) 肝細胞に作用して種々の急性相蛋白質 (血清アミロイド A (SAA), CRP やフィブリノーゲンなど) を誘導する肝細胞刺激因子 (HSF) の本態である。
- 3) 血液幹細胞に作用して多分化能コロニー形成因子 (multi-CSF) としての作用をもつ。
- 4) IL-1 刺激により線維芽細胞やアストロサイトから IL-6 が産生され、神経成長因子 (NGF) 様活性を示す。
- 5) 多発性骨髄腫に対してオートクライン増殖因子としての作用をもつ。
- 6) 胸腺細胞に作用して細胞増殖を誘導し、IL-2 の存在で抗原特異的キラー T 細胞の分化因子としての作用をもつ。
- 7) U937 や M₁ のような細胞株に作用してマクロファージの分化を誘導する。

このように BSF-2/IL-6 は、免疫系、血液系、神経系、肝臓の生体防御において中心的役割を担うことが明らかにされつつある。ヒト BSF-2 の cDNA 塩基配列は線維芽細胞から産生される 26KD 蛋白やインターフェロン β_2 、ハイブリドーマの増殖に関与する因子のそれと全く相同していることが判明してい

る^{19,20)}。

BSF-2/IL-6の疾患との関係については、上に述べたようにIL-6の多発性骨髄腫のオートクライン増殖因子としての作用をもち、BSF-2/IL-6とそのレセプターをコードする遺伝子の異常発現が骨髄腫の発症につながる事が示唆されている^{26,56)}。また、慢性関節リウマチ患者の滑液や血清中にBSF-2/IL-6の著明な増加が認められており、IL-6の産生異常と自己免疫疾患の病因との関連も注目され、他の病気の発症との関連性も相次いで報告されている。

最近、後飯塚^{15,43)}らは、Con Aで刺激した猫の脾細胞培養上清に反応するハイブリドーマ細胞クローン(B₃B₁)を作製した。このハイブリドーマ細胞はヒトのrecombinant BSF-2/IL-6に反応し濃度依存性の増殖を示し、その増殖反応はウサギ抗ヒトBSF-2抗体の添加により完全に阻止されること、またこの反応には猫のIL-1, IL-2活性は関係しないことから、このハイブリドーマ増殖反応はヒトのBSF-2/IL-6に相当する活性物質すなわち猫ハイブリドーマ増殖因子HGF/IL-6に依存していることを明らかにした。さらに、猫伝染性腹膜炎(FIP)罹患猫の腹水や血清には高い活性のHGF/IL-6が検出されたことから、FIPにおいて認められる高 γ -グロブリン血症はHGF/IL-6の異常産生に起因することを報告している。

7. インターロイキン7 (IL-7)

IL-7は従来、リンフォポイエチン1(LP-1)と呼ばれていた物質であり、骨髄細胞中の前駆B細胞の増殖を誘導する活性を有している。

LP-1すなわちIL-7は長期骨髄細胞培養系において付着性のストローマ細胞から産生されることが明らかにされていたが、Namenら³⁹⁾らは骨髄培養系より得たストローマ細胞にSV40をトランスフェクトさせることにより、大量のLP-1を持続的に産生する細胞株(1XN/A6)を樹立し、この細胞株培養上清中よりLP-1を精製した。この物質は、既知のサイトカイン(IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, GM-CSF, Gr-CSF, M-CSF, IFN α , INF β , IFN γ , TGF β)と異なること、特異的レセプターを介して前駆B細胞に作用してその増殖を誘導すること、またその分子量が約25K daltonであることなどを報告した。

さらに、彼らはこの物質の遺伝子クローニングに

成功したことにより、初めてこの物質をIL-7と呼ぶことを提唱した。彼らはIL-7産生株であるIXN/A6から得たmRNAよりcDNAを作成し、pDcベクターに連結して大腸菌に導入し、さらにこのプラスミドDNAをcos-7細胞にトランスフェクトさせることにより、IL-7産生クローンを選び出した。そしてこのクローンを用いて塩基配列の決定を行い、インサートは462塩基対のopen reading frameを含む1607塩基対の長さであることを明らかにした。また、IXN/A6から精製されたIL-7をもとにN末端アミノ酸配列の解析を行なった結果、IL-7は25個のアミノ酸からなるleader sequenceとそれに続く129個のアミノ酸からなり、その分子量は約14.9K daltonであることを推測した。そしてこの物質がglycosylationされて25K daltonのnative proteinになるものと考えている。さらに、組織のIL-7 mRNAの発現をnorthern blot法を用いて検索したところ、胸腺・脾などの臓器に発現されていることが判明した。

このようにしてIL-7なる物質の遺伝子がクローニングされたことから、recombinant IL-7を用いて、今後その生理活性、反応細胞およびこのレセプターなどが明らかにされるものと思われる。

8. インターフェロン (IFN)

IFNは、抗ウイルス活性をもつ分子量約2万の蛋白質で、現在抗原性の違いにより α , β , γ 型の3種類に分類されている⁴⁹⁾。IFN α とIFN β はpH2以下の処理に対して耐性であるが、IFN γ はpH2以下の処理に対して不安定である。IFN α はマクロファージやNK細胞から産生され、IFN β は線維芽細胞や上皮細胞から産生される。IFN γ はT細胞から産生される。この3つの型のIFNの存在が確認され、性質がよくわかっているのは、ヒトとマウスの場合であるが、ウサギ・ウシ・サルなどの哺乳動物でも同様であろうと推測されている。しかし、トリにおいては α と β 型のIFNの存在は判明しているものの γ 型IFNの存在はまだ確認されていない。

IFNは、最初ウイルスの増殖抑制因子として発見されたが、その後免疫系に対して種々の作用を示すことが判明した。IFNの主な作用は、1)ウイルスの増殖抑制、2)腫瘍細胞の増殖抑制、3)NK活性の増強、4)マクロファージの活性化、5)MHCクラスI抗原の発現増強、6)マクロファージのFcレセプ

ターの発現促進, 7) 骨髄系前駆細胞の抑制などである。これらの作用は, すべての型の IFN において認められている⁶⁴⁾。さらに, IFN γ は MHC クラス II 抗原や IL-2 レセプターの発現を増強する作用と有し, またキラー T 細胞の分化誘導においても重要な役割を演じている。INF γ はある種の免疫担当細胞の分化誘導を促進する作用因子として働くが, その場合には IL-2 など他のリンホカインとの協同作用によって効果が著しく高められる。マクロファージの活性化にしてもその十分な活性化には別の因子の関与が必要であるとの指摘もある。

9. リンホトキシン (LT) と腫瘍壊死因子 (TNF)

LT は TNF β と称され, また TNF は TNF α と称されている。両者共に腫瘍細胞に直接傷害的に働くサイトカインである。LT はリンパ球から産生されるが, TNF はマクロファージから産生される。最近, Gray ら¹⁶⁾ によって LT の cDNA がクローニングされ, 大腸菌での recombinant LT の産生も可能になり, LT の臨床への応用が期待されている。

LT は 171 個, TNF は 151 個のアミノ酸から成り, 両者のアミノ酸配列には 35% の相同性がみられるに過ぎない⁴⁸⁾。しかし, 両者の生物学的作用には多くの類似点もみられている。両者に共通する主な作用として, 1) *in vivo* である種の腫瘍に出血性壊死を惹起する, 2) *in vitro* で腫瘍細胞に対して増殖抑制作用および破壊作用を示す, 3) 直接的な腫瘍破壊作用のほかに, 生体の免疫機能を増強させることにより間接的に抗腫瘍作用も発揮する, 4) INF γ と相乗的に腫瘍細胞に対して傷害作用を発揮することなどが認められている。

最近, TNF は腫瘍傷害作用に加えて, 1) cachectin 活性(悪液質の誘導⁴⁹⁾), 2) 発熱活性, 3) IL-1 の産生誘導, 4) 好中球機能の増強, 5) ウイルスの増殖抑制, 6) マクロファージの抗腫瘍活性の増強, 7) 骨髄幹細胞に対する抑制作用, 8) 線維芽細胞の増殖促進, 9) 発癌の抑制などの作用を示すことが報告されている。

LT と TNF の活性は, 一般に ⁵¹Cr をラベルした標的細胞に対する傷害活性として遊離した ⁵¹Cr の量を定量することによって測定されている。

10. コロニー刺激因子 (colony stimulating factor; CSF)

CSF は好中球や単球マクロファージの動態の調節および生体の恒常性に関与する生理活性物質の一つである。この CSF には主として好中球と単球マクロファージ系の両者に働くもの (granulocyte-macrophage CFS; GM-CSF), 好中球系のみ働くもの (granulocyte-CFS; G-CSF), および単球・マクロファージ系に働くもの (macrophage-CSF; M-CSF) の 3 種類が存在する¹⁾。GM-CSF は PHA や抗原刺激を受けた T 細胞によって, また同様な刺激下で単球・マクロファージから産生される IL-1 や TNF を介して血管内皮細胞や線維芽細胞などによって産生される。G-CSF は線維芽細胞から CM-CSF と同様な機序で産生されるほか M-CSF やエンドトキシン, IFN γ などで活性化された単球マクロファージからも直接産生される。これに対して M-CSF はエンドトキシン IFN γ などで刺激された線維芽細胞や内皮細胞により産生されると同時に, 特別な刺激物質を添加しない内皮細胞や線維芽細胞中に出現することが知られている。

GM-CSF は multilineage な作用を有し, 主として好中球, 単球マクロファージ, 好酸球の生成を刺激する。これに対して G-CSF および M-CSF はそれぞれ好中球, 単球マクロファージの生成を刺激し, lineage specific に作用する造血ホルモンである。しかし, この *in vitro* 血球生成作用に関してヒト M-CSF は, 他の二者に比べて低い。また, GM-CSF と G-CSF についてはそれぞれ造血細胞のどの分化段階から働いているかは明らかにされていない。好中球遊走能に対する CSF の作用は異なっている。すなわち, GM-CSF は抑制的に働くのに対して, G-CSF は促進的に作用することが報告されている。

最近, 各 CSF の DNA プローブを用いた mRNA レベルでの解析が行われて⁶⁾, また遺伝子工学的手法を用いてヒトに応用可能なヒト純化 recombinant CSF の大量製造も行われ, それらを用いた臨床実験も開始され, 感染症を中心とした種々の疾患における有用性が示唆されつつある。

以上述べたサイトカインの生物学的機能の多様性を表 3 に要約した⁴²⁾。

表3 サイトカインの生物学的作用の多様性

Factor (Other names)	Major sources	Principal functions
IL-1		
(Endogenous pyrogen ; Ep) (Lymphocyte-activating factor ; LAF) (B cell activating factor ; BAF) (Leukocyte endogenous mediator ; LEM) (Mononuclear cell factor ; MCF)	-Monocytes, macrophage and macrophage cell lines -Dendritic cells -Natural killer cells -B cell lines -T cell lines -Endothelial cells -Epithelial cells -Fibroblasts -Astrocytes -Keratinocytes	Induces ; 1) lymphokine release from activated T cells 2) differentiation of activated B cells with B cell differentiation factor 3) proliferation of activated B cells with B cell growth factor 4) growth of fibroblasts, synovial cells, endothelial cells 5) tissue catabolism 6) release of prostaglandin E ₂ (PGE ₂) 7) fever 8) enhancement of natural killer activity 9) chemotaxin for neutrophils
IL-2		
(T cell derived growth factor ; TCGF) (T cell maturation/stimulating factor ; TMF/TSF) (Killer helper factor ; KHF)	-Activated T cells	Induces ; 1) growth of activated T cells, thymocytes 2) lymphokine production by T cells 3) cytotoxic T lymphocyte activity 4) production of B cells with anti-Ig+LPS 5) differentiation of B cells with anti-Ig+IL-4 6) enhancement of natural killer activity 7) enhancement of lymphokine-activated killer cell activity
IL-3		
(Mast cell growth factor ; MCGF) (P-cell stimulating factor ; PSF) (Hematopoietic cell growth factor ; HCGF) (Multiple colony stimulating factor ; multi-CSF)	-Lectin-stimulated T cells -Activated T cell clones -Myelomonocytic cell lines ; WEHI-3B	1) supports growth of mast cells 2) supports survival, growth and differentiation multipotential stem cells and monocytic, granulocytic, erythroid and megakaryocytic progenitor cells 3) induces 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase in pre-T cell,

		hematopoietic progenitors
		4) supports growth of pre-B cell lines
<hr/>		
IL-4	(B cell growth factor ; BCGF) (B cell stimulatory factor-1 ; BSF-1) (Macrophage-fusion factor ; MFF) (Macrophage activating factor ; MAF)	-Activated T cells -Mast cells -B cell line (CH12)
		1) growth factor for T cells, fetal thymocytes, mast cells 2) induces a) cytotoxic T lymphocyte activity, b) giant multinucleated cell production, c) proliferation of PMA-stimulated thymocytes, d) activation factor for hematopoietic progenitor cells (HPC), e) enhancement of antigen-presenting ability and tumoricidal activity of macrophages, f) expression of Ia on resting B cells. g) expression of Fc _ε receptor, h) proliferation of activated B cells, i) enhancement of IgE secretion by B cells
<hr/>		
IL-5	(T cell replacing factor ; TRF) (B cell growth factor II ; BCGF-II) (Eosinophilic differentiation factor ; EDF) (Killer helper factor ; KHF) (IgA-enhancing factor ; IgA-FE) (Eosinophil colony stimulating factor ; Eo-CSF)	-T cells
		Induces ; 1) proliferation of activated normal B cells and BCL1 cells 2) IgM and IgG secretion by activated normal B cell and/or BCL1 cells 3) IgA secretion by LPS-stimulated B cells 4) IL-2 receptor expression on activated B cells 5) antigen-specific plaque-forming cells by primed B cells 6) IgM and IgA secretion by SAC-stimulated B cells 7) differentiation of eosinophils 8) cytotoxic T lymphocytes from thymocytes with IL-2
<hr/>		
IL-6	(Hybridoma growth factor ; HGF) (interferon β_2 ; INF β_2) (B-cell stimulatory factor ; BSF-2) (Plasmacytoma growth fac-	-T cells -Macrophage line, P388D1 -Stromal cell line -Monocytes -HTLV-transformed T cell lines -Fibroblasts
		Induces ; 1) growth of plasmacytomas and hybridomas 2) Ig secretion by EBV-transformed B cells 3) proliferation of PMA-and IL

tor : PCT-GF) (Hybridoma/plasmacytoma growth factor : H/PGF) (B cell differentiation factor : BCDF) (B-cell stimulatory factor p2 : BSF-P2) (26 kD protein)	-Astrocytes -Bladder carcinoma cells -Osteosarcoma cells -Cardiac myxoma cells -Carcinoma cells	-4-stimulated thymocytes 4) production of acute phase proteins by hepatocytes/he- patoma cells 5) class II antigen expression on fibroblasts
IL-7 (Lymphopoietin 1 ; LP-1)	-Adherent stromal cells	Induces proliferation of B cell precursors in bone marrow
IFN IFN α (Leukocyte INF or type I INF)	-Leukocytes -Macrophages	1) reduces viral replication in cells 2) antimicrobial and tumoricidal activity of Macrophages
IFN β (Fibroblast IFN)	-Fibroblasts	1) reduces viral replication in cells 2) antimicrobial and tumoricidal activity of macrophages
IFN γ (Immune IFN) (Type II IFN) (Macrophage-activating factor ; MAF) (T cell replacing factor : TRF)	-Activated T lymphocytes -NK cells	Induces ; 1) reduction of viral replication in cells 2) enhancement of macrophage activity (phagocytosis, tumoricidal activity, IL-1 production) 3) activation of NK cells 4) class II antigen expression on macrophages, endothelial cells, fibroblasts, myelo- monocytic cells 5) Fc γ receptor expression on myelomonocytic cells 6) decrease of IL-4 secretion 7) Ig secretion of with IL-2 8) antigen-specific plaque-form- ing cells with TRF 9) suppression of hematopoiesis
LT	-Activated T cells	1) tumoricidal activity
TNF	-Activated macrophages	1) tumoricidal activity 2) cachectin activity 3) pyrogenic activity 4) enhancement of neutrophil

		functions
		5) reduction of viral replication in cells
		6) enhancement of growth of fibroblasts
		7) suppression of growth of myeloid stem cells
<hr/>		
CFS		
GM-CSF		
: Granulocyte-macrophage colony stimulating factor	- Activated T cells - Endothelial cells - Fibroblasts	1) stimulates neutrophil, monocyte-macrophage and eosinophil production 2) induces inhibitory effect on neutrophil chemotaxis
G-CSF		
: Granulocyte colony stimulating factor	- Monocytes - Fibroblasts	1) stimulates neutrophil production 2) induces enhancing effect on neutrophil chemotaxis
M-CSF		
: Macrophage colony stimulating factor	- Endothelial cells - Fibroblasts	1) stimulates monocyte-macrophage production

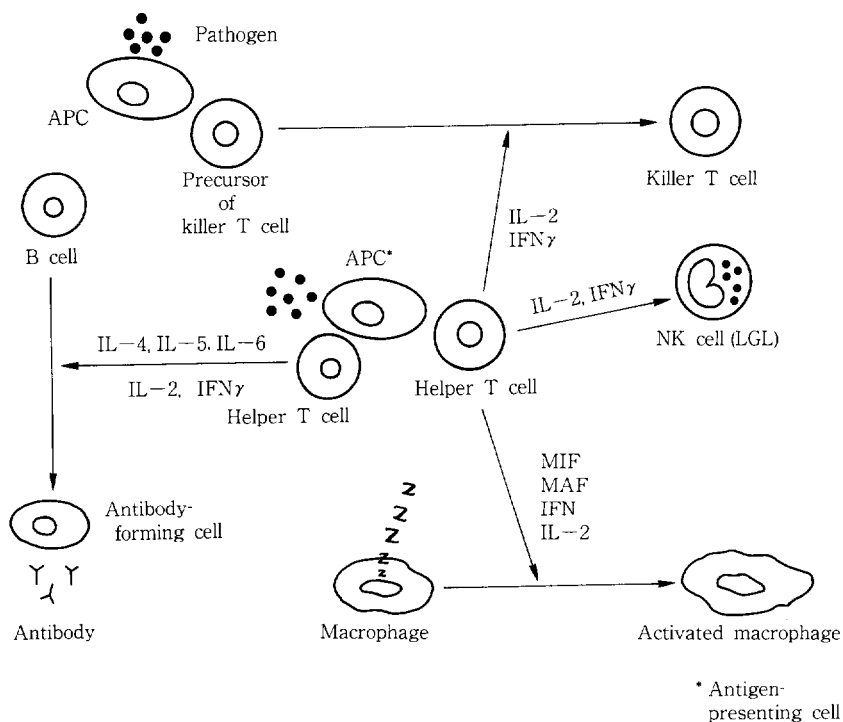


図4 感染防御機構に関するサイトカイン²⁵⁾

II. 生体内におけるサイトカインの主な役割

サイトカインは、種々の細胞性免疫および液性免疫において、その発現の作用物質あるいは調節に関与する作用物質として注目されており、その多くは直接的あるいは間接的に感染や腫瘍に対する生体防御機構において重要な役割をもつことが明らかにされている。

1) 感染防御機構に関与するサイトカイン (図4)

各種の細菌やウイルスに対する抗体による感染防御機構には、B細胞が主体的な役割を担っている。B細胞が抗体産生細胞へ分化・増殖するためには、ヘルパーT細胞から産生されるサイトカインの作用が必要である。これらのサイトカインのうち、B細胞の活性化に関与する因子としてIL-4、その増殖因子としてIL-2, IL-4, IL-5などが知られており、その分化に関与する因子としてはIL-4, IL-5, IL-6などが知られている²⁵⁾。

細胞内寄生菌である結核菌、サルモネラ菌、真菌および原虫などの感染に対する防御にはマクロファージが中心的な役割を果している。感作T細胞がこれらの侵入病原体によって刺激されると、リンパ球からマクロファージに作用する種々のサイトカイン(走化因子、遊走阻止因子、活性化因子など)が放出され、これらのサイトカインの作用によって、マクロファージが感染局所に集められると同時に、侵入病原体に対して強い抗微生物作用(貪食、殺菌、消化)を示すようになる。

ウイルス感染に対する防御機構において重要な役割を果すサイトカインとしては、IFNが知られている。すなわち、IFNは感染細胞に働いて、その細胞内でのウイルス増殖を抑制すると同時に、ウイルス感染細胞を破壊するキラーT細胞やNK活性を増強することにより、ウイルス感染を防御すると考えられている⁵⁰⁾。

2) 抗腫瘍免疫に関与するサイトカイン

抗腫瘍免疫機構を担う細胞群として、腫瘍抗原に特異的なキラーT細胞、NK細胞、LAK細胞、マクロファージなどが知られているが、これらのエフェクター細胞の活性化に関与する重要なサイトカインとしては、特にIL-2とIFNが知られている。

キラーT細胞が抗原刺激とIL-2により誘導されることは知られているが、最終的にキラー活性を有するエフェクターT細胞に分化するためにはIFN γ

あるいはIL-6も必要であると指摘する報告もある。また、NK細胞やLAK細胞の分化・増殖にもIL-2とIFN γ が必要である。

マクロファージも抗腫瘍免疫機構の一つとして注目されており、マクロファージの腫瘍細胞に対する傷害性を増強するサイトカインとしては、IL-1, TNF, IFNなどが知られている。また、マクロファージが腫瘍細胞を破壊する際にTNFがその作用因子として働いていることを示す報告もなされている。

おわりに

細胞間、特にT-B細胞間相互作用による免疫応答は抗原特異性を規定する活性物質や特異性とは関係ないものも含め多種多様の促進物質や抑制物質によって調節されている。サイトカインと称される物質には1980年頃100数種を超えるに至っていたが、その時点では生化学的実体は殆んど明らかにされていなかった。近年確立された遺伝子組換えおよび細胞融合技術の進展に伴って、これらのサイトカインのうち数種類の組換えサイトカインが作られるようになった。したがって、免疫細胞の機能調節に関与するサイトカインについても今後さらに遺伝子および分子レベルの解析が進み、その知見は複雑な免疫応答のネットワークの理解に有用となり、また今後のサイトカインの臨床応用に寄与するものと考えられる。

本稿では物質として明らかにされているヒトやマウスのサイトカインを中心に述べたが、家畜衛生領域における対象動物のサイトカインに関する知見は、上述したように乏しいのが現状であり、これらの対象動物のサイトカインの特性を検索することは比較生物学的観点からも重要であり、それに向けての地道な研究も必要であると思われる。

終りに臨み、獣医学領域におけるサイトカインに関する貴重なデータならびに御助言を提供していただいた東京大学農学部後飯塚僚先生に深謝します。

引用文献

- 1) 浅野茂雄: MG-CSF, G-CSF, M-CSFの基礎と臨床, 医学のあゆみ, 146, 287-290 (1988).
- 2) Azuma, C. et. al.: Cloning of cDNA for human T-cell replacing factor (interleukin-5) and comparison with the murine homologue. Nucleic Acid

- Res. 14, 9149-9158 (1986).
- 3) Babiuk, A. L. & Ohmann, H. B.: Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) infection in cattle as a model for viral induced immunosuppression. In: Progress in Leukocyte Biology, Vol. 1, 99-114, Liss, New York (1985).
 - 4) Beutler, B. et al.: Identity of tumor necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. Nature, 316, 552-554 (1985).
 - 5) Chouaib, S. & Fredeliz, D.: The mechanism of inhibition of human IL-2 production. J. Immunol. 129, 2463-2468 (1982).
 - 6) Clark, S. C. & Kamen, R.: The human hematopoietic colony-stimulating factors. Science, 236, 1229-1237 (1987).
 - 7) Clarke, M. F. et al.: Homology of human T-cell leukemia virus envelope gene with class I HLA gene. Nature, 305, 60-62 (1983).
 - 8) Fung, M. C. et al.: Molecular cloning of cDNA for murine interleukin-3. Nature, 307, 233-237 (1984).
 - 9) Gillis, S. et al.: T cell growth factor: parameters of production and a quantitative microassay for activity. J. Immunol. 120, 2027-2032 (1978).
 - 10) Goitsuka, R. et al.: Feline interleukin 2 activity. Jpn. J. Vet. Sci. 48, 529-537 (1986).
 - 11) Goitsuka, R. et al.: The decline in the production of interleukin 2 in cats spontaneously infected with feline leukemia virus. Jpn. J. Vet. Sci. 49, 7-14 (1987).
 - 12) Goitsuka, R. et al.: Feline interleukin 1 derived from alveolar macrophages stimulated with lipopolysaccharide. Jpn. J. Vet. Sci. 49, 631-636 (1987).
 - 13) Goitsuka, R. et al.: Release of interleukin 1 from peritoneal exudate cells of cats with feline infectious peritonitis. Jpn. J. Vet. Sci. 49, 811-818 (1987).
 - 14) Goitsuka, R. et al.: Feline interleukin 1 production induced by infectious peritonitis virus. Jpn. J. Vet. Sci. 50, 209-211 (1988).
 - 15) 後飯坂 僚ほか: 猫伝染性腹膜炎における hybridoma growth factor/interleukin 6 活性の検討, 第106回日本獣医学会講演要旨集, 277 (1988).
 - 16) Gray, P. W. et al.: Cloning and expression of cDNA for human lymphotoxin, a lymphokine with tumor necrosis activity. Nature, 312, 721-724 (1984).
 - 17) Haegeman, G. et al.: Structural analysis of the sequence encoding for an inducible 26-KDa protein in human fibroblasts. Eur. J. Biochem. 159, 625-632 (1986).
 - 18) 服部俊雄ほか: 白血病増殖因子としてのインターロイキン1, Immunohematology, 10, 25-29(1988).
 - 19) Hirano, T. et al.: Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. Nature, 324, 73-76 (1986).
 - 20) Hirano, T. et al.: Human B cell differentiation factor defined by an anti-peptide antibody and its possible role in autoantibody production. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84, 228-231 (1987).
 - 21) Ihle, J. N. et al.: Interleukin 3: possible roles in the regulation of lymphocyte differentiation and growth. Immunol. Rev. 63, 5-32 (1982).
 - 22) Ihle, J. N. et al.: Biological properties of homologous interleukin 3. I. Demonstration of WEHI-3 growth factor activity, mast cell growth factor activity, P cell stimulating factor activity, colony stimulating factor activity, and histaminereproducing cell-stimulating activity. J. Immunol. 131, 282-287 (1983).
 - 23) Ihle, J. N., Pepersack, L. & Reben, L.: Regulation of T cell differentiation: In vitro induction of 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase in splenic lymphocytes from athymic mice by a unique lymphokine. J. Immunol. 126, 2184-2189 (1984).
 - 24) Itohara, S. et al.: Cooperative regulation of bovine leukemia virus gene expression by two overlapping open reading frames in the XBL region. J. Gen. Virol. 69, 797-804 (1988).
 - 25) 笠倉新平: 病気とリンホカイン (増田徹, 笠倉新平編) 63-174, 講談社サイエンティフィック, 東京 (1986).
 - 26) Kawano, M. et al.: Autocrine generation and requirement of BSF2/IL-6 for human multiple myelomas. Nature, 332, 83-85 (1988).
 - 27) Lee, J. C., Hapel, A. J. & Ihle, J. N.: Constitutive production of a unique lymphokine (IL-3) by the WEHI-3 cell line. J. Immunol. 128, 2393-2397 (1982).
 - 28) Lee, J. C. et al.: Isolation and characterization of a mouse interleukin cDNA clone that expresses B-cell stimulatory factor 1 activities. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 83, 2061-2065 (1986).
 - 29) Lomedics, P. T. et al.: Cloning and expression of murine interleukin 1 cDNA in *Escherichia coli*. Nature, 312, 458-46 (1984).

- 30) Lotze, M. T. : Systemic administration of interleukin 2 in humans. *J. Biol. Res. Modifi.* 3, 475-482 (1984).
- 31) Mann, D. L. et al. : Cell surface antigen expression in newborn cord blood lymphocytes infected with HTLV. *J. Immunol.* 131, 2021-2024 (1983).
- 32) March, C. J. et al. : Cloning sequence and expression of two distinct human interleukin 1 complementary DNAs. *Nature*, 315, 641-642 (1985).
- 33) Maruyama, M. et al. : Evidence for aberrant activation of the interleukin 2 autocrine loop by HTLV-1-encoded p40x and T3/Ti complex triggering. *Cell*, 48, 343-350 (1987).
- 34) Miller, R. A. & Stutman, O. : Use of positively selected Lyt-2⁺ mouse splenocytes to examine interleukin 2-secretion in response to alloantigens and to TNP-modified syngeneic cells. *Cell. Immunol.* 68, 114-127 (1982).
- 35) Miller-Edge, M. & Splitter, G. A. : Role of interleukin 2 in animals. In: Pandey, R. ed. *Progress in Veterinary Microbiology and Immunology Vol. 4*. 56-87. Karger, Basel (1988).
- 36) Mizel, S. B. et al. : Characterization of lymphocyte-activating factor (LAF) produced by the macrophage cell line, p388D 1. 1. Enhancement of LAF production by activated T lymphocytes. *J. Immunol.* 120, 1497-1503 (1978).
- 37) Moore, R. N. et al. : Production of lymphocyte-activating factor (interleukin 1) by macrophages activated with colony stimulating factors. *J. Immunol.* 125, 1302-1305 (1980).
- 38) Mulé, J. J., Shu, S. & Rosenberg, S. A. : The anti-tumor efficacy of lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin 2 in vivo. *J. Immunol.* 135, 646-652 (1985).
- 39) Namen, A. E. et al. : B cell precursor growth-promoting activity, *Nature*, 167, 988-1002 (1988).
- 40) Neckers, L. M. & Cossman, J. : Transferrin receptor induction in mitogen-stimulated human T Lymphocytes is required for DNA synthesis and cell division and is regulated by interleukin 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80, 3494-3498 (1983).
- 41) Noma, Y. et al. : Cloning of cDNA encoding the murine IgG₁ induction factor by a novel strategy using SP6 promoter *Nature*, 319, 640-646 (1986).
- 42) O'Garra, A. : 'B-cell factors' are pleiotropic. *Immunol. Today*, 9, 45-54 (1988).
- 43) 大橋 貴, 後飯塚 僚, 長谷川 篤彦 : ネコの hybridoma growth factor/interleukin 6 活性の検討, 第106回日本獣医学会講演要旨集, 277 (1988).
- 44) Oppenheim, J. J. et al. : There is more than one interleukin 1. *Immunol. Today*, 7, 45-56 (1986).
- 45) Orsz, C. G. et al. : Retrovirus-mediated immunosuppression. I. FeLV-UV and specific FeLV proteins alter T lymphocyte behavior by inducing hyporesponsiveness to lymphokines. *J. Immunol.* 134, 3396-3403 (1985).
- 46) Orsz, C. G. et al. : Retrovirus-mediated immunosuppression. II. FeLV-UV alters in vitro murine T lymphocyte behavior by reversibly impairing lymphokine secretion. *J. Immunol.* 135, 583-590 (1985).
- 47) Paliard, X. et al. : Interleukin-4 mediates CD8 induction on human CD4⁺ T-cell clones. *Nature*, 335, 642-644 (1988).
- 48) Pennica, D. et al. : Human tumor necrosis factor : precursor, structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature*, 312, 724-729 (1984).
- 49) Pestka, S. et al. : Interferons and their actions. *Ann. Rev. Biochem.* 56, 727-736 (1987).
- 50) Pober, J. S. et al. : Lymphocytes recognized human vascular endothelial and dermal fibroblast Ia antigens induced by recombinant immune interferon. *Nature*, 305, 726-729 (1983).
- 51) Robb, R. J., Green, W. C. & Rusk, C. M. : Low and high affinity cellular receptors for interleukin 2. Implications for the level of Tac antigen. *J. Exp. Med.* 160, 1126-1146 (1984).
- 52) Resenberg, S. A., Spiess, P. & Lafreniere, R. : A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor infiltrating lymphocytes. *Science*, 233, 1318-1321 (1986).
- 53) Sanderson, C. T. et al. : Eosinophilic differentiation also has B-cell growth factor activity : Proposed name interleukin 4. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83, 437-440 (1986).
- 54) Smith, K. A. : T-cell growth factor. *Immunol. Rev.* 51, 337-357 (1980).
- 55) Solbach, W. et al. : Interactions of human T cell subsets during the induction of cytotoxic T lymphocytes : the role of interleukins. *Clin. Exp. Immunol.* 49, 167-175 (1982).
- 56) Sporn, M. & Roberts, A. B. : Autocrine growth factors and cancer. *Nature*, 313, 745-747 (1985).
- 57) Swain, S. L. & Dutton, R. W. : Production of a B cell growth promoting activity. (DL) BCGF, from a cloned T cell line and its assay on the BCL1 B

- cell tumor. *J. Exp. Med.* 156, 1821-1834 (1982).
- 58) Takatsu, K. et al.: Interleukin 5, a T-cell-derived B-cell differentiation factor also induces cytotoxic T lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84, 4234-4238 (1987).
- 59) Teshigahara, K. et al.: Interleukin 2 high affinity receptor expression requires two distinct binding proteins. *J. Exp. Med.* 165, 223-238 (1987).
- 60) Tsudou, M. et al.: The p75 peptide is the receptor for interleukin 2 expressed on large granular lymphocytes and is responsible for the interleukin 2 activation of these cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84, 5394-5398 (1987).
- 61) Uchida, A. & Klein, E.: Activation of human blood lymphocytes and monocytes by the streptococcal preparation OK432. *Immunol. Lett.* 10, 177-181 (1985).
- 62) Van Damme, J. et al.: Identification of the human 26-KD protein, interferon β_2 (IFN β_2), as a B cell hybridomal plasmacytoma growth factor induced by interleukin 1 and tumor necrosis factor. *J. Exp. Med.* 165, 914-919 (1987).
- 63) Wainberg, et al.: Viral inhibition of lymphocyte mitogenesis: interference with the synthesis of functionally active T cell growth factor (TCGF) activity and reversal inhibition by the addition of same. *J. Immunol.* 130, 2372-2378 (1983).
- 64) 渡部好彦: INF γ , リンホカイン(増田徹, 笠原新平編), 92-101, 講談社サイエンティフィック, 東京 (1986).
- 65) Yamaguchi, Y. et al.: Purified interleukin 5 supports the terminal differentiation and proliferation of murine eosinophilic precursors. *J. Exp. Med.* 167, 43-58 (1988).
- 66) Yang, Y-C. et al.: Human IL-3 (multi-CSF): Identification by expression cloning of a novel hematopoietic growth factor related to murine IL-3. *Cell*, 47, 3-10 (1986).
- 67) Yokota, T. et al.: Isolation and characterization of a mouse DNA clone that expresses mast-cell growth factor activity in monkey cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 1070-1074 (1984).
- 68) Yokota, T. et al.: Isolation and characterization of a human interleukin cDNA clone, homologous to mouse B-cell stimulating factor 1, that expresses B-cell-and T-cell-stimulating activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83, 5894-5898 (1986).
- 69) Zilberstein, A. et al.: Structure and expression of cDNA and genes for human interferon- β_2 , a distinct species inducible by growth stimulatory cytokines. *EMBO J.* 5, 2529-2537 (1986).