

3) アロ抗原反応性Tリンパ球の活性化 における IL-1 と IL-2 の役割

新潟大学医学部医動物学教室 渡部 久実・藤原 道夫

The Role of IL-1 and IL-2 for T cell Activation to Allo-MHC antigen

Hisami WATANABE and Michio FUJIWARA

Department of Medical Zoology, Niigata University School of Medicine

Interleukin 1 (IL-1) is normally produced by activated M ϕ and has a wide range of biological activities. One of these activity is the capacity to induce the IL-2 production of T cells. Interleukin 2 (IL-2), produced by activated T cells, induces the proliferation and differentiation on T and B cells.

In this report, the signal requirement for the activation of T cells in C57BL/6 mice was examined in in vitro responses to mutant MHC class I antigen (H-2K^{bm1}). From our observations, activation of T cells responding to MHC class I antigen could be explained as follows. Lyt 2⁺ T cells recognize directly the mutant MHC class I antigen and then IL-1 receptor (IL-1R) and IL-2 receptor (IL-2R) appear on the T cells. Accessory cells secrete IL-1 upon the binding of T cells. The secreted IL-1 may bind IL-1R on the responding T cells and induce production of IL-2, which binds to IL-2R. Thus, T cell proliferation and CTL (cytotoxic T lymphocyte) generation will proceed autonomously.

Key words: T cell activation, Allo-MHC antigen, Accessory cells, IL-1, IL-2.

T細胞活性化, アロ MHC 抗原, アクセサリー細胞, インターロイキン1,
インターロイキン2.

1. はじめに

リンホカインは、白血球や免疫担当細胞が抗原やその他の刺激で分泌する生物活性物質であり、その活性によって種々の名称が与えられてきた。それらの物質も、リンパ球が産生するものをリンホカイン、マクロファージ系が産生するものをモノカインと呼んでいたが、最近では細胞が産生する生物活性物質という意味で、サイトカインという総称が与えられている。

このような種々の生物活性物質の分類と命名が、1979

年の第2回国際リンホカインワークショップでなされ、インターロイキン(リンパ球間の伝達を司るホルモン様物質)という名前が与えられた。ここではマクロファージが産生する lymphocyte activating factor (LAF) に対してインターロイキン1 (IL-1)、T細胞増殖因子(TCGF)をインターロイキン2 (IL-2)と呼称することが定唱された。現在までに IL-1, IL-2, IL-3 (multi-CSF), IL-4 (BSF-1), IL-5 (TRF/BCGF-2), IL-6 (BSF-2) が、その他のサイトカインとしては、IFN- γ ,

Reprint requests to: Hisami WATANABE,
Department of Medical Zoology, Niigata
University School of Medicine, Niigata
City, 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通 1 の 757
新潟大学医学部医動物学教室

渡部 久実

GM-CSF, M-CSF, G-CSF, TNF などが報告されている。さらに細胞工学や遺伝子工学の技術を用いて、その遺伝子の構造が明らかにされ、レセプターの構造、レセプターの発現調節機構、レセプターを介するシグナル伝達機構の解明が行なわれている。このようなサイトカインの遺伝子のクローニングは、大部分が日本人の研究者によってなされてきたことは特筆すべき点である。

本稿では、これらのサイトカインの中でも免疫応答の中心的役割をはたすT細胞の増殖、分化誘導に重要なIL-1とIL-2について概説し、我々が検討しているアロ抗原反応T細胞活性化の機構におけるIL-1とIL-2の役割について述べてみたい。

2. IL-1とIL-2

IL-1は、単核性食細胞(マクロファージや単球)がT細胞に抗原呈示を行なうときに分泌され、T細胞を活性化する物質(LAF)として知られてきたが、その後線維芽細胞、皮膚表皮細胞、多核白血球、血管内皮細胞、脳の星状膠細胞などの多くの細胞から産生されることが明らかになった。従ってその生物学的作用も多彩であり、T細胞やB細胞の増殖分化誘導、コラゲナーゼ産生誘導、発熱、急性期タンパク合成増強、抗腫瘍作用、線維芽細胞の増殖誘導などが報告されている。IL-1 cDNAのクローニングによる構造解析の結果、IL-1の分子量は17.5kDaで、等電点pIが5のIL-1 α (159のアミノ酸より構成)とpIが7のIL-1 β (156のアミノ酸より構成)の2種類が知られており、相互のアミノ酸レベルでのhomologyは約26%、ヒトとマウスのIL-1は62~80%のhomologyをもつことがわかってきた。IL-1レセプターの分子量は約80kDaで、IL-1 α 、IL-1 β とも同じレセプターに結合する。一方、細胞あたりのレセプター数は 10^3 以下で、これはIL-2レセプター数の約1/100以下である。IL-1のassay法としては、PHA存在下でのマウス胸腺細胞の増殖を測定する方法が一般的に用いられているが¹⁾、最近ではラジオイムノアッセイ法のキットも市販されるようになってきた。

IL-2はT細胞増殖因子として、T細胞の増殖分化誘導のための重要なサイトカインとして知られている。しかしIL-2はT細胞だけでなく、B細胞の増殖分化誘導や、腫瘍細胞に対する効果的なエフェクター細胞であるLAK細胞の誘導にも機能する。IL-2 cDNAのクローニングにより、ヒトIL-2は分子量15.4kDaで133個のアミノ酸から、マウスIL-2は分子量で17.2kDaで149個のアミノ酸からなり、ヒトとマウスIL-2のhomologyは約63%であることがわかってきた。IL-2

レセプターはサイトカインレセプターの中では最もよく研究が進んでおり、55kDaの分子量をもつ低親和性レセプター(Tacエピトープ、p55)と、70~75kDaの低または中度親和性レセプター(p75)が存在し、p55-p75複合体が高親和性レセプターを構成しシグナル伝達にたずさわることが明らかになってきた。IL-2のassay法では、マウスのIL-2依存性T細胞クローン(CTLL-2, HT-2など)を用いることが多いが¹⁾、ELISA法やラジオイムノアッセイ法も使用されるようになってきた。

なお、IL-1およびIL-2については多くの総説や成書があるので参考にしていただきたい²⁾⁻¹⁰⁾。

3. アロ抗原反応性T細胞活性化のシグナルとしてのIL-1とIL-2

T細胞活性機構における主要組織適合抗原(MHC)の役割は、外来抗原やアロMHC抗原に対するT細胞の応答の解析において明確になってきた。一般に外来抗原は、マクロファージあるいは樹状細胞などの抗原呈示細胞(APC)上で自己MHC class II抗原(Ia抗原)とともに呈示され、ヘルパーT細胞はこれを認識することにより活性化されることが知られている¹¹⁾。

一方、アロMHC抗原に対するT細胞の活性化については、外来抗原の場合とは異なり、自己Ia抗原の関与しない系も存在する。Singerらのグループは、T細胞には $L_3T_4^+$ ($CD4^+$)と $Lyt\ 2^+$ ($CD8^+$)の2種類のヘルパーT細胞が存在するとし、アロclass I抗原に対するT細胞の活性化には二つの経路が働くことを示した¹²⁾¹³⁾。すなわち、 $L_3T_4^+$ ヘルパーT細胞が自己のAPC上にIa抗原とともに呈示されたアロclass I抗原を認識することにより活性化され、活性化により分泌されるIL-2が $Lyt\ 2^+$ CTL(cytotoxic T lymphocyte)の分化誘導を引き起こす経路と、 $Lyt\ 2^+$ ヘルパーT細胞がIa抗原を認識することなく直接アロclass I抗原により活性化され $Lyt\ 2^+$ CTLが誘導されるという経路である。アロclass II抗原に関しては、T細胞が直接アロ抗原を認識して活性化されCTLが誘導される。これに反応するT細胞のサブセットは $L_3T_4^+$ 細胞であるが、一部 $Lyt\ 2^+$ 細胞も反応する¹⁴⁾。従って誘導されたCTLは、 $L_3T_4^+$ あるいは $Lyt\ 2^+$ の表面マーカーを持っている¹⁵⁾。しかし $Lyt\ 2^+$ CTLは、 $L_3T_4^+$ ヘルパー細胞の存在により誘導される可能性があると思われる。

このようにアロ抗原反応性T細胞の活性化機構は、外来抗原による活性化機構とは異なる系も働いていること

表 1 アロ class I 抗原 (H-2K^{bm1}) に対する B6 Lyt2⁺ T 細胞の応答

Responder 細胞	Stimulator 細胞	リンホカイン	増殖応答	CTL 活性	IL-2 産生	IL-2R 発現	IL-1R 発現
B6 Lyt2 ⁺ T 細胞	bm1(W) ¹⁾	—	++	++	++	++	+
	bm1(G-10) ²⁾	—	—	—	—	+	+
	〃	IL-1	+	++	+	++	N.T ³⁾
	〃	IL-2	+	++	N.T	N.T	N.T

1) bm1 脾細胞

2) アクセサリー細胞を除いた bm1 脾細胞

3) 未検討

が明らかとなってきたが、これらの活性化のシグナルについてはどうであろうか。T細胞の活性化には、T細胞レセプターを介してのシグナル伝達や、L₃T₄ (CD4) 分子、Lyt 2 (CD8) 分子、LFA-1 などの接着分子およびリンホカインなどが関与することが知られているが、それらの詳細については不明な点が多い。

我々は、アロ class I 抗原に対する T 細胞活性化の機構をリンホカインのシグナルから検討した¹⁶⁾¹⁷⁾。C57BL/6 (B6) マウスの脾臓 Lyt 2⁺ T 細胞を Responder 細胞とし、B6 の mutant マウスで MHC class I 抗原 (H-2K^b) のアミノ酸組織が 3 個異なる bm1 (B6. C-H-2^{bm1}) マウス (H-2K^{bm1}) 脾細胞を stimulator 細胞として MLC (mixed lymphocyte culture) を行ない、増殖応答および CTL 活性を指標として解析を行なった。結果は表 1 に要約して示した。Stimulator に bm1 脾細胞 (bm1 (w)) を用いた場合は強い増殖応答や CTL 活性が見られるが、bm1 脾細胞より Sephadex G-10 カラムを用いてアクセサリー細胞 (Ac 細胞) を除いた脾細胞 (bm1 (G-10)) を Stimulator とすると、これらの応答はみられなくなる。従って T 細胞の活性化には、Stimulator 細胞中の Ac 細胞 (樹状細胞やマクロファージ) の存在が必須であることが示された。なお、我々が検討した限りでは、Singer らが報告しているような自己の Ac 細胞が関与する系は見いだされていない。そこでこの Ac 細胞の役割を解析するために、種々のリンホカインを添加し、リンホカインが Ac 細胞の代りをするかを検討した。Ac 細胞を除いた bm1 脾細胞 (bm1 (G-10)) を Stimulator とし、そこに IL-1 および IL-2 を添加することにより有意な増殖応答と CTL 活性が認められた。IL-2 は重要な T 細胞活性化因子として知られていることから、次に IL

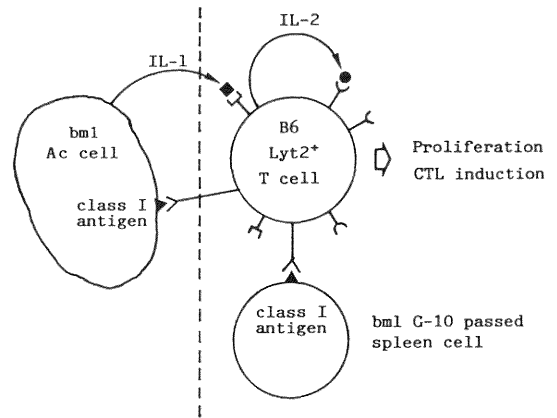


図 1 アロ class I 抗原に対する T 細胞活性化の機序

-1 添加による IL-2 産生および IL-2 レセプター (IL-2R) の発現を調べた。Stimulator を bm1 (G-10) 細胞とした場合は、増殖応答、CTL 活性、IL-2 産生は見られなかったが、responder の B6 Lyt 2⁺ T 細胞が bm1 (G-10) 細胞上の class I 抗原を認識することにより、IL-2 レセプターや IL-1 レセプター (IL-1R) の発現が誘導されることが示された。従って、この系に IL-1 や IL-2 を添加することにより T 細胞は活性化されていく。事実、IL-1 添加により IL-2 産生や IL-2R 発現の増強が見られ、有意な増殖応答と CTL 活性が認められている。

以上の結果より、我々はアロ class I 抗原に対する T 細胞の活性化には stimulator 細胞中の Ac 細胞が重要であり、その役割としてはアロ class I 抗原を直接 Lyt 2⁺ T 細胞に呈示し、その結果 IL-1 を産生することにより T 細胞を活性化することであると考えている。すな

わち, Lyt 2⁺ T細胞は主に Ac 細胞上のアロ class I 抗原を認識し, Ac 細胞より産生される IL-1 によって活性化され, IL-2 などのリンホカインを産生し CTL への増殖分化していくものと考えられる (図 1).

4. おわりに

リンホカイン (サイトカイン) は多くの機能をもつとともに, 種々の細胞で産生されていることが明らかになってきた. また, 我々の実験系でも示されたように, リンホカインのレセプターが解明されてきたことにより, リンホカインが種々の細胞の分化段階に働き, 細胞の分化誘導が制御されていることがわかってきた. 一方, リンホカインの産生異常やそのレセプターの発現異常が自己免疫疾患などの発症につながることも示されており, リンホカインの治療への応用も期待されている.

参 考 文 献

- 1) Gearing, A.J.H., Johnstone, A.P. and Thorpe, R.: Production and assay of the interleukins. *J. Immunol. Methods.*, **83**: 1~27, 1985.
- 2) T cell stimulating growth factors. *Immunol. Rev.*, **51**, 1980.
- 3) B cell growth and differentiation factors. *Immunol. Rev.*, **78**, 1984.
- 4) Smith, K.A.: Interleukin 2. *Ann. Rev. Immunol.*, **2**: 319~333, 1984.
- 5) Durum, S.K., Schmidt, J.A. and Oppenheim, J.J.: Interleukin 1, an immunological respective. *Ann. Rev. Immunol.*, **3**: 263~287, 1985.
- 6) Oppenheim, J.J., Kovacs, E.J., Matsushima, K. and Durum, S.K.: There is more than one interleukin 1. *Immunol. Today*, **7**: 45~56, 1986.
- 7) インターロイキンの多面性, *細胞工学*, **6**(6), 1987.
- 8) サイトカインとそのレセプター, *免疫薬理*, **5**(2), 1987.
- 9) IL-1 をめぐって, *臨床免疫*, **20**(2), 1988.
- 10) O'Garra, A., Umland, S., De France, T. and Christiansen, J.: 'B-cell factors' are pleiotropic. *Immunol. Today*, **9**: 45~54, 1988.
- 11) Singer, A and Hodes, R.: Mechanisms of T cell-B cell interaction. *Ann. Rev. Immunol.*, **1**: 211~241, 1983.
- 12) Singer, A., Kruisbeek, A.M. and Andrysiak, P.M.: T cell-accessory cell interactions that initiate allospecific cytotoxic T lymphocyte responses: existence of both Ia-restricted and Ia-unrestricted cellular interaction pathways. *J. Immunol.*, **132**: 2199~2209, 1984.
- 13) Singer, A., Munitz, T.I., Golding, H., Rosenberg, A.S. and Mizuochi, T.: Recognition requirements for the activation, differentiation and function of T-helper cells specific for class I MHC alloantigens. *Immunol. Rev.*, **98**: 143~170, 1987.
- 14) Golding, H., Mizuochi, T., McCarthy, S.A., Cleveland, C.A. and Singer, A.: Relationship among function, phenotype, and specificity in primary allospecific T cell populations: identification of phenotypically identical but functionally distinct primary T cell subsets that differ in their recognition of MHC class I and class II allodeterminants. *J. Immunol.*, **138**: 10~17, 1987.
- 15) 渡部久実, 藤原道夫: Class II MHC 抗原 (Mutant I-A^b) を認識する Tリンパ球のクローニングとその性状, *日本免疫学会記録*, **16**: 213, 1986.
- 16) Fujiwara, M. and Watanabe, H.: Responsiveness of T cells to mutant major histocompatibility complex class I antigen. I. Obligatory dependence of proliferative response on the presence of stimulator type accessory cells. *Scand. J. Immunol.* **27**: 311~318, 1988.
- 17) Watanabe, H., Saitoh, T. and Fujiwara, M.: Responsiveness of T cells to mutant major histocompatibility complex class I antigen. II. Role of stimulator-type accessory cells with reference to interleukin 1 production. *Scand. J. Immunol.* **29**: 343~351, 1989.